



Marlene Guerreiro Antunes

Mestrado Integrado em Engenharia do Ambiente

**Contributo para a Avaliação do Balanço
Associado à Degradação de Compostos
Disruptores Endócrinos em Águas
Residuais Domésticas**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia do Ambiente, perfil de Engenharia Sanitária

Orientador: Leonor Miranda Monteiro do Amaral,
Professora Auxiliar, FCT/UNL

Júri:

Presidente: Prof. Doutora Leonor Miranda Monteiro do Amaral

Arguente: Prof. Doutora Idalina de Jesus Domingos

Vogal: Doutor Mário Emanuel Campos de Sousa Diniz



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Novembro de 2008

Contributo para a Avaliação do Balanço Associado à Degradação de Compostos
Disruptores Endócrinos em Águas Residuais Domésticas

©Copyright em nome de Marlene Guerreiro Antunes, da FCT/UNL e da UNL

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objectivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Agradecimentos

À professora Leonor Amaral, orientadora desta dissertação, pelas oportunidades que me deu, pelos ensinamentos prestados, disponibilidade, apoio e incentivo, e principalmente pela amizade e carinho que sempre fez questão de demonstrar.

À engenheira Rita Maurício por todos os ensinamentos prestados, disponibilidade, bibliografia facultada e incentivo incondicional, sem os quais este trabalho não teria sido desenvolvido.

À equipa do REQUIMTE, em especial ao professor José Luís Capelo e à Doutora Raquel Rial-Otero, pela sua disponibilidade, ensinamentos prestados e por apoio total, que foram imprescindíveis para a persecução deste trabalho.

Um agradecimento muito especial às minhas colegas e amigas Ana Sofia Diogo e Carolina Patrocínio, pela camaradagem, espírito de interajuda e enorme amizade que foram fundamentais para a realização deste trabalho.

À Ana Brandão, pela sua disponibilidade e espírito de interajuda, e à Luísa Caldeira pelo apoio no laboratório.

Aos meus amigos que acompanharam todos os momentos da elaboração desta dissertação, e que sempre transmitiram apoio e incentivo.

Finalmente, um agradecimento muito especial à minha família e ao Gonçalo pelo apoio incondicional na realização deste trabalho.

Resumo

As estações de tratamento são alvo de novos desafios, com o aumento das exigências para a descarga do efluente final no meio receptor. Em muitos países foi identificada actividade estrogénica em efluentes, responsável pelas graves alterações na subsistência e na sustentabilidade dos ecossistemas e na saúde pública. De entre os vários compostos relacionados com a actividade estrogénica das águas residuais, os principais compostos responsáveis são os alquilfenóis, e os seus metabolitos de degradação, nonilfenol e octilfenol.

Este trabalho contribui para avaliar o balanço associado à degradação de compostos disruptores endócrinos (nonilfenol e octilfenol) no decorrer do tratamento biológico. Foram realizados ensaios com os dois compostos, em reactores *batch*, cuja variável em estudo foi a concentração dos compostos alvo. Foram efectuadas análises em GC/MS para a quantificação dos compostos nas amostras.

Os resultados demonstram que ambos os compostos têm tendência para a adsorção em matérias sólidas, sendo facilmente degradados no decorrer do tratamento biológico. Efectivamente, os resultados não devem ser encarados a título definitivo, sendo necessário efectuar estudos futuros para alcançar os objectivos pretendidos.

As principais conclusões retiradas deste estudo são que a metodologia existente deve ser melhorada, e que em estudos futuros será necessário controlar todos os factores que influenciam a degradação dos disruptores endócrinos, de forma a recriar as condições naturais de tratamento de numa ETAR.

Este estudo deve ser encarado como um contributo para a compreensão global do comportamento e destino do NP (nonilfenol) e do OP (octilfenol) num reactor biológico. A sua compreensão será necessária para poder explorar tratamentos terciários eficazes para a remoção de AP em geral.

Palavras Chave

ETAR, disruptores endócrinos, nonilfenol, octilfenol, reactor biológico

Abstract

The treatment plants are subject to new challenges, with increased requirements for discharge of effluent in the receiving surface water. In many countries was identified estrogenic activity in effluents, responsible for serious changes in the livelihood and sustainability of ecosystems and public health. Among the various compounds related to estrogenic activity of wastewater, the main compounds responsible are alkylphenols, and the metabolites of degradation, nonylphenol and Octylphenol.

This work contributes to evaluate the assets associated with the degradation of endocrine disruptors compounds (nonylphenol and Octylphenol) during the biological treatment. Trials were conducted with the two compounds in batch reactors, whose study was variable in the concentration of target compounds. Tests were carried out in GC / MS for the quantification of compounds in the samples.

The results show that both compounds tend to adsorption in solids and is easily degraded during the biological treatment. Indeed, the results should not be regarded as definitive, being necessary to conduct further studies to achieve the desired objectives.

The main conclusions drawn from this study are that the existing methodology should be improved, and that in future studies will be necessary to control all the factors that influence the degradation of endocrine disruptors in order to recreate the natural conditions of sewage treatment work.

This study should be seen as a contribution to the overall understanding of the behavior and fate of NP and OP in a biological reactor. Their understanding will be needed to explore effective tertiary treatment for the removal of AP in general.

Keywords

STW, endocrine disruptors, nonylphenol, octylphenol, biological reactor

Índice

1	Introdução	1
1.1	Tratamento de Águas Residuais.....	2
1.1.1	Sistemas mais comuns de Tratamento de Águas Residuais	3
1.1.2	Tratamento Preliminar	4
1.1.3	Tratamento Primário.....	5
1.1.4	Tratamento Secundário	5
1.1.5	Tratamento Terciário	6
1.1.6	Tratamento da Fase Sólida	7
1.2	Enquadramento Legal	8
1.3	A nova problemática.....	9
1.3.1	Sistema endócrino.....	10
1.3.2	Definições	12
1.4	Compostos Disruptores Endócrinos.....	13
1.4.1	Principais grupos de Compostos Disruptores	13
1.4.2	Métodos de determinação de Compostos Disruptores	16
1.4.3	Programas ambientais para os Disruptores Endócrinos	17
1.5	Propriedades dos compostos em águas residuais.....	18
1.5.1	Mecanismos de remoção na linha de tratamento da fase líquida.....	19
1.5.2	Mecanismos de remoção na linha de tratamento da fase sólida.....	22
1.6	Caso de estudo	22
1.6.1	Características dos Compostos alvo	23
1.6.2	Comportamento e destino dos Alquilfenóis em ETAR	25
2	Objectivos.....	29
3	Plano experimental.....	31
4	Materiais e métodos	33
4.1	Materiais.....	33
4.1.1	Inóculo.....	33

4.1.2	Substrato	33
4.1.3	Compostos	34
4.2	Métodos	34
4.2.1	Métodos Analíticos	34
4.2.2	Modo Operatório	37
5	Apresentação e Exploração de Resultados	39
5.1	Adaptação da Biomassa	39
5.2	Ensaio de Biodegradabilidade	39
5.2.1	Octilfenol	40
5.2.2	Nonilfenol	45
6	Discussão	51
6.1	Metodologia Utilizada	51
6.2	Análise dos Resultados	52
7	Conclusões	55
8	Bibliografia	57
Anexos	61
ANEXO I	63
ANEXO II	73

QUADROS

QUADRO 1.1 – NÍVEIS DE TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUAIS DOMÉSTICAS 4

QUADRO 1.2 – PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS IMPORTANTES PARA OS PROCESSOS DE REMOÇÃO DOS
DISRUPTORES ENDÓCRINOS. 13

QUADRO 1.3 – CARACTERÍSTICAS DO 4-OCTILFENOL 23

QUADRO 4.1– COMPOSIÇÃO DA ALIMENTAÇÃO DO INÓCULO PARA O PRIMEIRO ENSAIO. 33

QUADRO 4.2 - COMPOSIÇÃO DA ALIMENTAÇÃO DO INÓCULO PARA O SEGUNDO ENSAIO. 34

QUADRO 4.3 – CARACTERÍSTICAS DE RETENÇÃO DOS COMPOSTO SELECCIONADOS 37

QUADRO 4.4 – CARACTERÍSTICAS DOS REACTORES UTILIZADOS NOS ENSAIOS. 38

QUADRO 5.1 - VALORES DE PARÂMETROS ANALISADOS NO INÍCIO DOS ENSAIOS COM O OCTILFENOL. 39

QUADRO 5.2 – VALORES DE PARÂMETROS ANALISADOS NO INÍCIO DO ENSAIO COM O NONILFENOL..... 39

FIGURAS

FIGURA 1.1 – ESQUEMA REPRESENTATIVO DO SISTEMA ENDÓCRINO HUMANO.	10
FIGURA 1.2 – DESCRIÇÃO DO PROCESSO DE DISRUPÇÃO ENDÓCRINA. (A) RESPOSTA NATURAL; (B) EFEITO AGONISTA; (C) EFEITO ANTAGONISTA	11
FIGURA 1.3 - ESTRUTURAS DE COMPOSTOS ESTERÓIDES, A ESTRUTURA BASE DOS ESTROGÊNEOS NATURAIS (A), O NATURAL 17 β -ESTRADIOL (B); E O SINTÉTICO 17 α ETENILESTRADIOL (C)	14
FIGURA 1.4 – ESTRUTURA DO 4-OCTILFENOL	24
FIGURA 1.5 – UMA DAS ESTRUTURAS POSSÍVEIS DO NONILFENOL (DIREITA), E AS SUAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS (ESQUERDA)	25
FIGURA 1.6 – ETAPAS TEÓRICAS DE DEGRADAÇÃO DO APEO NO DECORRER DO TRATAMENTO	26
FIGURA 4.1 – MONTAGEM DA EXTRACÇÃO EM FASE SÓLIDA.....	35
FIGURA 4.2 – EQUIPAMENTO DE GC/MS UTILIZADO.....	36
FIGURA 5.1 – EVOLUÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE OCTILFENOL, PRESENTE NA FASE LÍQUIDA NO DECORRER DOS ENSAIOS.	40
FIGURA 5.2- EVOLUÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE OCTILFENOL, PRESENTE NA FASE SÓLIDA, NO DECORRER DOS ENSAIOS	41
FIGURA 5.3 – TAXA DE REMOÇÃO DO OP PARA A FASE LÍQUIDA, NOS REACTORES A E B.	42
FIGURA 5.4 –TAXA DE REMOÇÃO DE OP NA FASE SÓLIDA, DOS REACTORES A E B.....	42
FIGURA 5.5 – QUANTIDADE TOTAL DE OP RECUPERADO NAS AMOSTRAS DO REACTOR A (5 MG OP/L),NO DECORRER DO ENSAIO.....	44
FIGURA 5.6 – QUANTIDADE TOTAL DE OP RECUPERADO NAS AMOSTRAS DO REACTOR B (10 MG OP/L), NO DECORRER DO ENSAIO.....	44
FIGURA 5.7 – TAXA DE REMOÇÃO DE OP, NOS REACTORES A (5 MG OP/L) E B (10 MG OP/L).	45
FIGURA 5.8 – EVOLUÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE NP NA FASE LÍQUIDA DAS AMOSTRAS, NO DECORRER DO ENSAIO, PARA O REACTOR A E B.....	46
FIGURA 5.9 – (I) EVOLUÇÃO GERAL DA CONCENTRAÇÃO DE NP NA FASE SÓLIDA DAS AMOSTRAS; (II) EVOLUÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE NP NO PERÍODO ENTRE AS 24 E AS 216 HORAS DO ENSAIO	46
FIGURA 5.10 – TAXA DE REMOÇÃO DE NP NA FASE LÍQUIDA, NOS REACTORES A E B, NO DECORRER DO ENSAIO.	47
FIGURA 5.11 – TAXA DE REMOÇÃO DE NP NA FASE SÓLIDA, NOS REACTORES A E B, NO DECORRER DO ENSAIO.	48
FIGURA 5.12 – QUANTIDADE DE NP RECUPERADO NO REACTOR A (2 MG NP/L), NO DECORRER DO ENSAIO.	48
FIGURA 5.13 – QUANTIDADE DE NP RECUPERADO NO REACTOR B (7 MG NP/L), NO DECORRER DO ENSAIO.	49

FIGURA 5.14 – TAXA DE REMOÇÃO DO NP, NO REACTOR A (2 MG NP /L) E B (7 MG NP/L). 49

FIGURA 6.1 – RELAÇÃO DA TAXA MÁXIMA DE REMOÇÃO COM A CONCENTRAÇÃO DOS COMPOSTO EM ESTUDO, OP (À DIREITA) E NP (À ESQUERDA). 54

1 Introdução

Com o despoitar da Revolução Industrial observou-se um rápido e contínuo desenvolvimento tecnológico, motivado por um extraordinário crescimento económico.

As populações passaram a ter facilidade no acesso aos novos e constantes produtos industriais, passando-se a fixar, principalmente, nos grandes centros urbanos. Efectivamente, as cidades industrializadas cresceram exponencialmente, não só em termos de desenvolvimento económico, como em número de habitantes, vindo a revelar-se como as grandes “fábricas” de poluição da Era Contemporânea.

No decorrer do século XX, o estilo de vida vigente nas sociedades industrializadas sofria alterações constantes, fruto do surgimento de novos equipamentos, novos produtos e novas modas. De um ponto de vista generalizado, o crescimento industrial seguiu no sentido de alimentar as novas necessidades das populações, garantindo-lhes acima de tudo, um facilitismo e uma abundância em produtos, serviços e entretenimento. Para tal, foi necessário recorrer de forma exacerbada às matérias-primas, que em grande parte consistiam em recursos naturais não renováveis, para suprir as necessidades aliadas à intensificação dos processos industriais.

Todas as comunidades produzem resíduos, sólidos, líquidos bem como emissões gasosas. Contudo, o intensificar dessas pressões no meio ambiente, veio a revelar-se como o grande flagelo da actualidade constituindo actualmente um enorme desafio para a sobrevivência humana.

Efectivamente, existem também fenómenos naturais que contribuem igualmente para muitos dos episódios de poluição, mas não são eles que se encontram no centro das questões mais alarmantes, como a destruição da camada do ozono, ou até mesmo das alterações climáticas. Muito pelo contrário, estes gravíssimos problemas atmosféricos são da responsabilidade das actividades humanas, entre as quais se destacam as actividades industriais, os transportes, a utilização generalizada de combustíveis fósseis e a emissão de compostos antropogénicos.

Para além da problemática assumida relativa às alterações climáticas, é no problema da poluição da água que as atenções do mundo se concentram. A possível escassez deste bem essencial para a vida na terra tem levado a projecções, entre as quais algumas bem pessimistas, que apontam que o nosso planeta já se encontra a viver uma séria crise de água, e se assim for, a poluição da água contribui de forma significativa para a menor disponibilidade dos recursos hídricos.

As fontes de contaminação dos recursos hídricos podem ser pontuais ou difusas, sendo estas últimas muito mais difíceis de controlar. Contudo, são as descargas de águas residuais que constituem a principal fonte de contaminação, podendo esta ser caracterizada como pontual ou contínua.

As águas residuais contêm, entre muitas outras substâncias, nutrientes e microrganismos patogénicos, podendo ainda conter compostos tóxicos ou compostos potencialmente mutagénicos ou cancerígenos. Os nutrientes, especialmente o azoto e o fósforo, podem estimular o crescimento excessivo das plantas aquáticas, provocando a eutrofização e a degradação da qualidade das massas de água. Por outro lado, os microrganismos patogénicos e a presença de compostos tóxicos ou potencialmente mutagénicos ou cancerígenos constituem um problema de saúde pública. Por estas razões torna-se essencial a drenagem e o tratamento destas águas, de modo a proteger as populações e o ambiente (Metcalf & Eddy , 2003).

1.1 Tratamento de Águas Residuais

A água residual pode ser caracterizada como a água consumida que é rejeitada pela comunidade, após o seu uso resultando de um variado conjunto de aplicações. Efectivamente, a água residual drenada pelo sistema de saneamento (quando presente) consiste não só na água rejeitada por toda a população servida, como também na água infiltrada no sistema, cuja origem pode residir em escoamentos pluviais, afluições freáticas ou de ligações ilegais à rede de drenagem (Metcalf & Eddy, 2003).

Num sistema público de saneamento, o objectivo principal consiste no atendimento do maior número de alojamentos. Assim, os clientes servidos tipificam-se, essencialmente, em domésticos, comércio, serviços públicos e entidades sem fins lucrativos.

Importa referir que o efluente produzido por uma unidade industrial, devido às suas características específicas, necessita de um tipo de tratamento diferente do usualmente aplicado ao efluente doméstico, e por isso não é habitual a sua ligação à rede de drenagem municipal.

A complexa questão que se coloca a engenheiros e delegados de saúde pública assenta em quais os métodos de tratamento que deverão ser alcançados, visando a protecção do meio ambiente e da saúde pública. A resposta a esta questão requer uma análise detalhada das condições e necessidades locais, da aplicação de conhecimentos científicos e de uma análise cuidada de engenharia baseada em experiencias passadas e, considerações ao nível da jurisdição local e regional (Metcalf & Eddy, 2003).

O tratamento das águas residuais tem por objectivo a produção de um efluente com uma qualidade tal que contribua para a prevenção de doenças e de situações incómodas e indesejáveis (cheiros, insectos, etc.); evitar a contaminação das águas, nomeadamente as de abastecimento e navegação, manter a qualidade da água de modo a preservar a sua função ecológica e os usos balneares e recreativos, e que conserve a qualidade e quantidade da água para futuros usos (Spellman, 2003).

1.1.1 Sistemas mais comuns de Tratamento de Águas Residuais

Os processos de tratamento que consistem essencialmente na aplicação de forças físicas são denominados por operações unitárias, enquanto os processos de tratamento nos quais a remoção de contaminantes presentes nas águas é feita através de reacções químicas ou biológicas são conhecidos como processos unitários. Actualmente, os métodos de tratamento aplicam e combinam as operações e os processos unitários, providenciando vários níveis de tratamento, conhecidos como preliminares, primários, primários avançados, secundários (com ou sem remoção de nutrientes), e tratamento avançado (ou terciário) (Metcalf & Eddy, 2003). O nível de tratamento a aplicar a um determinado efluente depende da qualidade final pretendida, face às restrições do meio receptor.

No Quadro 1.2 encontram-se sintetizadas as diversas etapas que podem constituir o tratamento da fase líquida.

Quadro 1.1 – Níveis de Tratamento de águas residuais domésticas (Metcalf & Eddy, 2003)

Nível de Tratamento	Descrição
Preliminar	Remoção de resíduos sólidos das águas nomeadamente, vegetação, areias ou partículas flutuantes e, gorduras que podem causar problemas operacionais ou de manutenção, nos sistemas de tratamento
Primário	Remoção de uma parte dos sólidos suspensos e matéria orgânica das águas residuais
Primário Avançado	Remoção melhorada dos sólidos suspensos e matéria orgânica das águas residuais. É tipicamente acompanhado por adição de químicos ou filtração
Secundário	Remoção de matéria orgânica biodegradável (em solução ou suspensão) e de sólidos suspensos. A desinfecção é tipicamente incluída nas definições convencionais de tratamento secundário
Secundário com Remoção de Nutrientes	Remoção de matéria orgânica biodegradável, sólidos suspensos e nutrientes (azoto, fósforo, ou azoto e fósforo)
Terciário	Remoção de resíduos sólidos suspensos (após o tratamento secundário), geralmente através de filtração granular média ou fina. A desinfecção é também típica neste método de tratamento. A remoção de nutrientes é também incluída na sua definição
Avançado	Remoção de materiais dissolvidos ou suspensos que permanecem após um tratamento biológico convencional, aquando da necessidade de reutilização destas águas

1.1.2 Tratamento Preliminar

O tratamento preliminar detém a sua importância no facto de permitir uma remoção de sólidos grosseiros que têm a sua entrada no sistema de drenagem por via indirecta, como sarjetas e sumidouros. Estes sólidos podem ter diversas origens, como folhagens ou embalagens existentes na via pública, e a sua presença em fases posteriores de tratamento podem danificar os equipamentos e desregular os próprios processos de tratamento. O tratamento preliminar também consiste na remoção de areias, através de um órgão especializado designado de desarenador, e na remoção de gorduras e óleos, através de um desengordurador.

1.1.3 Tratamento Primário

Após o tratamento preliminar, a água residual segue para o tratamento primário, que consiste normalmente numa decantação (decantação primária). O objectivo desta operação é a remoção de sólidos sedimentáveis (inorgânicos e orgânicos) e de escumas, reduzindo desta forma os sólidos suspensos, e produzindo um efluente clarificado. O efluente é conduzido para o tratamento biológico, enquanto os sólidos decantados e depositados no fundo do decantador, são removidos sob a forma de lamas primárias e os sólidos. No que se refere à matéria menos densa que a água (escumas) e que se acumula na superfície do decantador, é removida e enviada para o concentrador de gorduras.

O tratamento primário, embora seja menos frequente, pode ter a adição de químicos, nomeadamente adição de reagentes e coagulantes, ou então ser sujeito a filtração.

1.1.4 Tratamento Secundário

Existem várias operações e processos que podem ser combinados de muitas formas para assegurar o tratamento secundário do efluente. Como as ARU (águas residuais urbanas) têm uma forte componente de substâncias biodegradáveis, passíveis de ser tratadas biologicamente, o tratamento secundário processa-se no reactor biológico tendo por objectivos: oxidar as partículas e substâncias biodegradáveis em produtos finais; capturar e incorporar os sólidos suspensos e coloidais num floco biológico ou no biofilme; transformar ou remover nutrientes, nomeadamente o azoto e o fósforo; e, em alguns casos, remover compostos específicos, como por exemplo metais pesados e poluentes prioritários (Metcalf & Eddy, 2003).

A remoção e estabilização da matéria orgânica constituinte do efluente doméstico, é conseguida biologicamente através do recurso a uma variedade de microrganismo, sendo maioritariamente bactérias. Estes microrganismos são utilizados para oxidar a matéria orgânica dissolvida ou particulada, em produtos finais simples e em nova biomassa (novas células).

Os processos biológicos mais usados no tratamento de ARU podem ser divididos essencialmente em duas categorias: biomassa suspensa e biomassa fixa.

Nos processos por biomassa fixa os microrganismos aderem a um meio de suporte. Esse meio de suporte pode ser pedra, areia, materiais sintéticos ou outro material desde que seja durável, e que providencie bastante área para o crescimento dos microrganismos e espaço livre para ventilação.

Os biofiltros, os leitos percoladores e os biodiscos ou discos biológicos são exemplos de processos biológicos por biomassa fixa.

Um processo biológico de biomassa suspensa tem por objectivo transformar matéria solúvel em matéria sedimentável. Face ao exposto têm de ser criadas condições para que a sedimentação dos sólidos e a decantação da água se processe.

As lamas activadas correspondem ao processo de biomassa suspensa mais utilizado. Neste processo é mantida uma concentração adequada de biomassa em suspensão que é sujeita a um arejamento que pode ser mecânico ou pneumático. O arejamento serve não só para garantir a concentração de oxigénio desejada como também para impedir a decantação da biomassa no tanque de arejamento e o contacto entre a biomassa e o substrato disponível.

Uma característica deste processo é a recirculação de sólidos sedimentados no decantador secundário para o reactor biológico. É esta característica que permite obtenção de níveis de tratamento elevados, uma vez que é garantida a concentração óptima dos microrganismos relativamente ao processo em causa

Normalmente, num tratamento biológico havendo formação de sólidos terá de existir um decantador secundário. A sua função é semelhante à do decantador primário, ou seja, promover a separação entre os sólidos e o efluente líquido.

1.1.5 Tratamento Terciário

O tratamento terciário é definido como os métodos e processos utilizados para remover as substâncias suspensas e dissolvidas que não foram removidas no tratamento secundário (nutrientes, CBO₅ e SST) e, se necessário, inactivar os microrganismos patogénicos.

Quando a descarga é feita em zonas sensíveis, existem imposições legais mais exigentes nos valores de descarga, incluindo a remoção de azoto e fósforo. Contudo, o tratamento terciário pode ser usado, também, para conferir uma qualidade tal ao efluente que permita que este possa ser reutilizado.

Os processos usados no tratamento terciário são variados, dependendo do objectivo que se pretende. Para a remoção de nutrientes pode ser usada precipitação química ou tratamento biológico. Na remoção/inactivação de patogénicos é usada a desinfecção, principalmente quando se pretende a reutilização do efluente, ou quando a descarga é feita em águas balneares ou de zonas próximas de captação de água para consumo humano. A desinfecção é feita essencialmente

por uma questão de saúde pública. Normalmente recorre-se ao uso de cloro (ou derivados como o hipoclorito), ozono ou radiação ultravioleta.

1.1.6 Tratamento da Fase Sólida

Ao longo das operações e processos de tratamento da fase líquida vão sendo gerados subprodutos, como sejam os gradados, areia e gorduras, no tratamento preliminar, e os sólidos e biosólidos (lamas) nos processos de decantação. As lamas primárias e as lamas secundárias representam o maior subproduto gerado em termos de volume, cujo tratamento se baseia no seu espessamento, estabilização e desidratação.

Efectivamente as lamas podem ter elevadíssimos teores de água. Como o custo de eliminação é feito com base no volume, o principal objectivo do tratamento de lamas é retirar o máximo de água de forma a reduzir o volume.

A redução do volume permite também um manuseamento e transporte mais fáceis, diminuindo os custos de transporte até ao destino final, um aumento do poder calorífico das lamas por redução do teor em água, essencial para a sua possível incineração, uma redução dos cheiros e o potencial de putrefacção e a sua compostagem ou deposição em aterro (Metcalf & Eddy, 2003).

O espessamento de lamas é feito num órgão semelhante a um decantador, sendo que as lamas espessadas são encaminhadas para o processo de estabilização e o sobrenadante retorna à linha de tratamento da fase líquida.

A estabilização tem por objectivos reduzir o volume, estabilizar a matéria orgânica e eliminar os organismos patogénicos de modo a viabilizar a valorização ou eliminação das lamas (Langford *et al.*, 2003). Existem vários processos químicos e biológicos para a estabilização das lamas. Um exemplo de estabilização por via química é a adição de cal. Contudo, sempre que possível, deve evitar-se a utilização de reagentes de modo a minimizar os custos de tratamento. A estabilização por via biológica pode ocorrer por digestão aeróbia, digestão anaeróbia, compostagem ou incineração, entre outros processos. A digestão anaeróbia, sendo o método tradicional para a estabilização de lamas, tem a vantagem de apenas uma pequena percentagem da matéria orgânica se converter em novas células, ou seja, apresenta uma menor produção de lamas. A maioria da matéria orgânica é convertida em dióxido de carbono e metano, havendo possibilidade de recuperação energética (Spellman, 2003).

Depois de estabilizadas as lamas são encaminhadas para a desidratação e o sobrenadante, à semelhança do que acontece no espessamento, retorna à linha de tratamento da fase líquida. A lama quando sai do digestor ainda contém muita água, pelo que é submetida a desidratação. A desidratação é uma operação física que vai ajudar a uma diminuição significativa do volume removendo a água ainda presente. A concentração final das lamas desidratadas depende do método escolhido (filtro banda, centrífuga, leitos de secagem, etc.), mas ronda os 20 % (Metcalf & Eddy, 2003).

Os destinos mais comuns para as lamas tratadas, são a valorização agrícola, deposição em aterro ou a incineração. A valorização agrícola é o destino mais barato e a aplicação das lamas ao solo permite a reciclagem de nutrientes e uma melhoria da produtividade do solo (Langford e Lester, 2003). Contudo, as lamas provenientes de uma ETAR podem conter inúmeros compostos orgânicos e inorgânicos, existindo por isso normas para o tratamento de lamas de modo a que possam ser valorizadas ou eliminadas sem constituírem qualquer perigo para o homem e para o ambiente.

1.2 Enquadramento Legal

O intensificar das pressões sobre os recursos hídricos, principalmente através de actividades fortemente poluentes, justificaram a profunda reforma que o sector da água viria a sofrer.

A nível de legislação de águas residuais domésticas, o Decreto-Lei n.º 152/97, de 19 de Junho, que transpõe para o direito interno a Directiva n.º 91/271/CEE, do Conselho, de 21 de Maio, é sem dúvida o documento legislativo mais importante, estando nele estabelecidos os valores de descarga que as águas residuais, depois de tratamento apropriado, devem cumprir. Além dos valores de descarga é estabelecido o nível de tratamento a que estas devem ser sujeitas, tendo em consideração o número de equivalente populacional do aglomerado em questão e do meio onde vai ser descarregado (zona sensível ou zona menos sensível).

O Decreto-Lei n.º 261/99, de 7 de Julho veio alterar o mapa e a lista de identificação de zonas menos sensíveis, de acordo com o imperativo legal exposto no Decreto-Lei n.º 152/97, sendo que a identificação das zonas sensíveis e o correspondente mapa foram, igualmente, alterados pelo Decreto-Lei n.º 172/2001, de 26 de Maio. Após decorridos cerca de cinco anos sobre a primeira revisão da identificação das zonas menos sensíveis e três anos sobre a revisão relativa às zonas sensíveis, e encontrando-se terminados os complexos estudos técnicos e científicos necessários à

segunda revisão legal da identificação destas zonas no território nacional, foi aprovado o Decreto-Lei n.º 149/2004, de 22 de Junho.

Além da legislação relativa directamente às águas residuais é importante também referir a legislação relativa aos subprodutos gerados no decorrer do seu tratamento. Actualmente o único subproduto que é sujeito a legislação específica, tendo em vista a sua valorização, é as lamas. O Decreto-Lei n.º 118/2006, de 21 de Junho, aprova o regime jurídico de utilização agrícola de lamas, tendo sido revogados o Decreto-Lei n.º 446/91, de 22 de Novembro, a Portaria n.º 176/96, de 3 de Outubro, a Portaria n.º 177/96, de 3 de Outubro, e o despacho conjunto n.º 309-G/2005, de 19 de Abril.

1.3 A nova problemática

No passado, a maior preocupação no tratamento de águas residuais e industriais era a redução da carência bioquímica de oxigénio (CBO). Actualmente, a preocupação com a saúde, principalmente a toxicidade, tem-se sobreposto aos objectivos iniciais das estações de tratamento (Blum *et al.* 1990).

Embora o efluente de uma ETAR já não seja comparável a uma água residual, quer em matéria orgânica, quer em resíduos sólidos e outros poluentes, ainda assim é uma fonte de poluição. Apesar dos esforços desenvolvidos, persistem nas águas residuais compostos que têm uma elevada resistência quer à degradação quer à transformação. Esses poluentes passam através do sistema de tratamento, continuando a contaminar o meio receptor, sendo na maioria compostos que o Homem tem vindo a introduzir na natureza. Muitos destes compostos, xenobióticos, não são degradados, continuando a persistir e causando cada vez mais danos na saúde pública e na subsistência e na sustentabilidade dos ecossistemas (Birkett, 2003).

As ETAR promovem um tratamento eficaz da água residual, de maneira a que esta tenha condições para ser reintegrada no meio receptor. A revolução da indústria química, iniciada na década de 30, levou à criação de milhares de compostos químicos sintéticos. A chegada dos anos 70 com o uso generalizado de compostos orgânicos e a reutilização das águas, aumentou o interesse nesses compostos por poderem estar presentes no efluente residual (Gomes e Lester, 2003).

É vastamente reconhecido que certos compostos podem interferir de inúmeras maneiras com o sistema endócrino, podendo assim afectar a saúde, o crescimento e a reprodução de muitas

espécies. Estas substâncias são referidas como compostos disruptores endócrinos. O problema com estes compostos tem vindo a ganhar notoriedade desde o início do século XX, tornando-se cada vez mais importante devido a relatos que os relacionam a doenças humanas, e mais significativamente a efeitos fisiológicos adversos em animais (Birkett, 2003).

1.3.1 Sistema endócrino

Os animais e as plantas necessitam de regular e integrar as diferentes funcionalidades das diferentes células que constituem os seus organismos. Os dois sistemas responsáveis por isso são o sistema nervoso e o sistema endócrino. Este último sistema é crucial quer para animais e plantas, pois é responsável pelo crescimento, reprodução, manutenção, equilíbrio interno e metabolismo. No que diz respeito aos seres humanos, o seu sistema endócrino consiste em várias glândulas em diferentes partes do corpo que produzem hormonas com diferentes funções. As glândulas endócrinas são: hipotálamo, glândula pineal, hipófise, tireóide, paratiroides, supra-renal e as gónodas (Birkett, 2003).

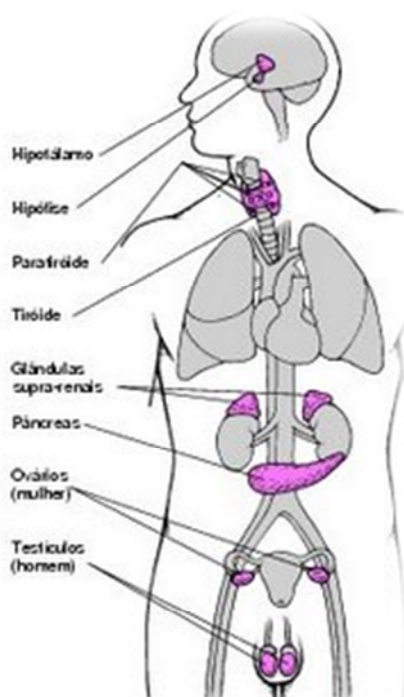


Figura 1.1 – Esquema representativo do sistema endócrino humano.

As glândulas libertam as hormonas na corrente sanguínea para que estas cheguem às células do órgão alvo. As hormonas aderem ao receptor, alterando o funcionamento da célula, de modo a produzir a resposta requerida. O tempo de vida das hormonas no organismo é curto, devido ao mecanismo metabólico de limpeza.

Contudo existem substâncias químicas que têm a capacidade de interferir com os receptores de hormonas. Embora cada receptor tenha uma maior afinidade para uma hormona específica, quando certas substâncias se encontram presentes, os receptores acabam por se ligar a estas, induzindo um funcionamento nas células não desejado. Inclusive, interferem no mecanismo de limpeza, persistindo no corpo humano (Birkett, 2003). A estas substâncias com capacidade de interferir com o sistema endócrino, dá-se o nome de disruptores endócrinos.

Os compostos disruptores podem no final de contas interferir com o sistema endócrino, podendo interferir especialmente em certos estágios do desenvolvimento sexual.

O local nos receptores que interage com as hormonas tem uma alta afinidade para uma hormona específica, sendo por isso apenas necessário uma baixa concentração desta para obter a resposta requerida. Pode definir-se que uma hormona com elevada potência é capaz de obter uma resposta em baixa concentração. Contudo os receptores embora tenham alta afinidade para uma dada hormona, também conseguem ligar-se a outras substâncias, podendo assim também os disruptores interagir com os receptores em baixa concentração.

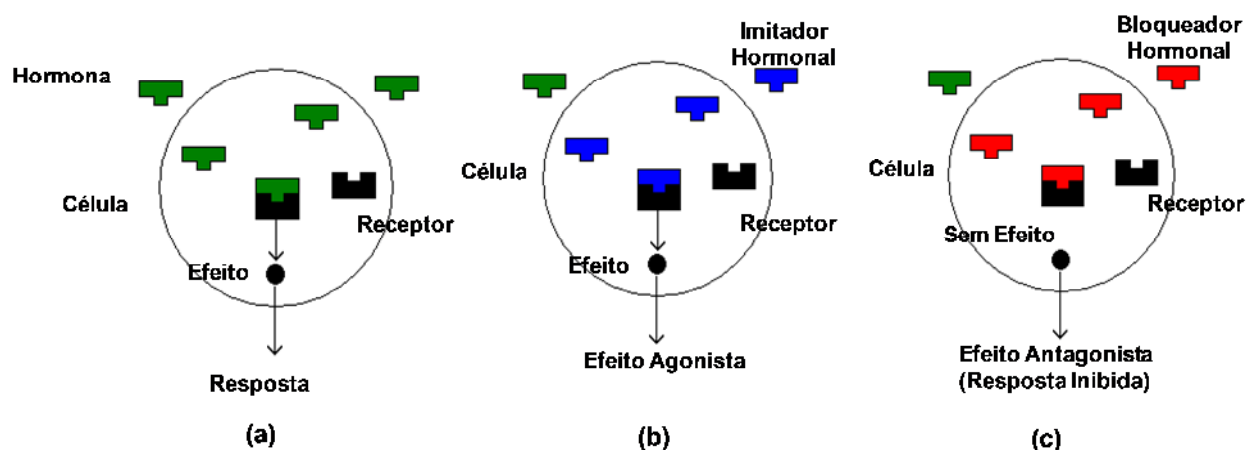


Figura 1.2 – Descrição do processo de interrupção endócrina. (a) resposta natural; (b) efeito agonista; (c) efeito antagonista (adaptado de Birkett, 2003)

Disrupção endócrina ocorre quando os compostos disruptores interagem com o receptor, alterando a resposta padrão natural do sistema endócrino.

Na Figura 1.2, encontram-se esquematizados os tipos de processos que podem ocorrer com o receptor de hormonas. O efeito agonista ocorre quando a molécula do composto disruptor se liga ao receptor e activa uma resposta, imitando a acção da hormona. O efeito antagónico define-se

quando ocorre uma ligação entre a molécula do composto disruptor e o receptor que não produz qualquer resposta, agindo assim a molécula como um bloqueador.

A maioria dos disruptores endócrinos são moléculas pequenas que portanto imitam ou antagonizam pequenas hormonas como os esteróides ou hormonas da tiróide. Estes podem eliminar as hormonas naturais responsáveis por regular o equilíbrio interno e os processos de desenvolvimento e reprodução.

1.3.2 Definições

Foi no Workshop Europeu sobre o impacto dos disruptores endócrinos na saúde humana e meio ambiente, que foi sugerida a seguinte definição: “Um disruptor endócrino é uma substância exógena que causa efeitos adversos à saúde de um organismo intacto, ou à sua prole, com mudanças subsequentes nas funções endócrinas” (UE, 1996).

A agência americana Environmental Protection Agency (EPA) sugeriu uma definição mais detalhada de um disruptor endócrino. “ Um disruptor endócrino é um agente exógeno que interfere com a síntese, secreção, transporte, encaixe, acção ou eliminação de hormonas naturais que são responsáveis pela manutenção do equilíbrio interno, reprodução, desenvolvimento e ou comportamento” (EPA, 1997)

Contudo, um disruptor endócrino pode apresentar um comportamento estrogénico ou androgénico, sendo por isso necessária uma definição geral que incluía esses termos.

Os estrogénios naturais são definidos de um modo geral como “qualquer hormona da família dos esteróides que regula e sustém as funções reprodutivas femininas e o seu desenvolvimento sexual”. Portanto, as moléculas que imitam as moléculas de estrogénio biológico são denominadas de compostos estrogénicos (Birkett, 2003).

No que respeita ao androgénio, este é definido como “ uma classe de hormonas sexuais masculinas, relacionadas com o esteróide androstane, produzidas no córtex adrenal e nos testículos, onde se incluem a testosterona e androsterona, responsáveis pelas características masculinas secundárias”. Assim sendo, as moléculas que imitam as hormonas masculinas, são denominadas de androgénicos (Birkett, 2003).

1.4 Compostos Disruptores Endócrinos

Os compostos disruptores endócrinos devem a sua presença no meio ambiente a diferentes procedências. Essas mesmas fontes podem representar implicações na exposição humana, efeitos nos organismos vivos e efeitos ou acumulações no meio natural. Em consequências disso muitos destes compostos têm a sua presença dispersa por todo o meio ambiente (Birkett, 2003) .

O comportamento e destino dos disruptores endócrinos são influenciados pelas suas propriedades físico-químicas. Devido a essas mesmas propriedades, a maioria dos compostos disruptores apresentam tendência para a adsorção a superfícies sólidas ou a microrganismos. Esta repartição para a fase sólida é definida pela sua solubilidade e coeficientes de partição, sendo que baixa solubilidade em água e elevados coeficientes de partição Octanol/água (K_{ow}) e partição Carbono/água (K_{oc}) indicam uma elevada afinidade com a fase sólida.

Quadro 1.2 – Propriedades físico-químicas importantes para os processos de remoção dos Disruptores Endócrinos (adaptado de Birkett e Lester, 2003).

Propriedades Físico-químicas	Potencial	Baixo	Moderado	Alto
Solubilidade	Dissolução (mg/L)	< 1	-	1000
Constante da Lei de Henry	Evaporação (atm m ³ /mole)	>10 ⁻²	10 ⁻² – 10 ⁻⁷	< 10 ⁻⁷
Coeficiente Koc	Adsorção (log Koc)	< 3	-	>3
Coeficiente Kow	Bioconcentração (log Kow)	< 2,5	>2,5 - < 4	>4

1.4.1 Principais grupos de Compostos Disruptores

Os compostos disruptores presentes no meio ambiente podem ter origem natural ou antropogénica, não tendo necessariamente uma relação estrutural com os esteróides naturais. Assim, as substâncias que podem intervir com o receptor de hormonas podem ter diversas origens químicas.

Os principais grupos de compostos químicos com características estrogénicas são seguidamente apresentados:

Esteróides - As hormonas naturais, como o estrogéneo, a progesterona e a testosterona, foram intensivamente utilizadas na produção de carne, para efeitos de crescimento acelerado. Se houve um aumento de esteróides em tecidos comestíveis, também é provável que tenha aumentado os

níveis de esteróides em humanos. Em consequência, na Europa desde 1989, foi proibido o uso de esteróides na produção de carne. Contudo, também foram detectadas concentrações de hormonas em peixes, crias, ovos, lacticínios e seus derivados (Birkett, 2003).

Os compostos esteróides que mais atenção científica tem requerido são os estrogéneos naturais (estrona [E1], 17β -estradiol) e os sintéticos (Ethinilestradiol e mestranol), porque são os que mais contribuem para a actividade estrogénica presenciada na água residual urbana e no respectivo meio receptor (Desbrow *et al.*, 1998).

A Figura 1.3 ilustra a estrutura dos estrogéneos naturais, que é constituída basicamente por três anéis hexagonais e um pentagonal, sendo que o principal é o anel-A, responsável pela actividade biológica.

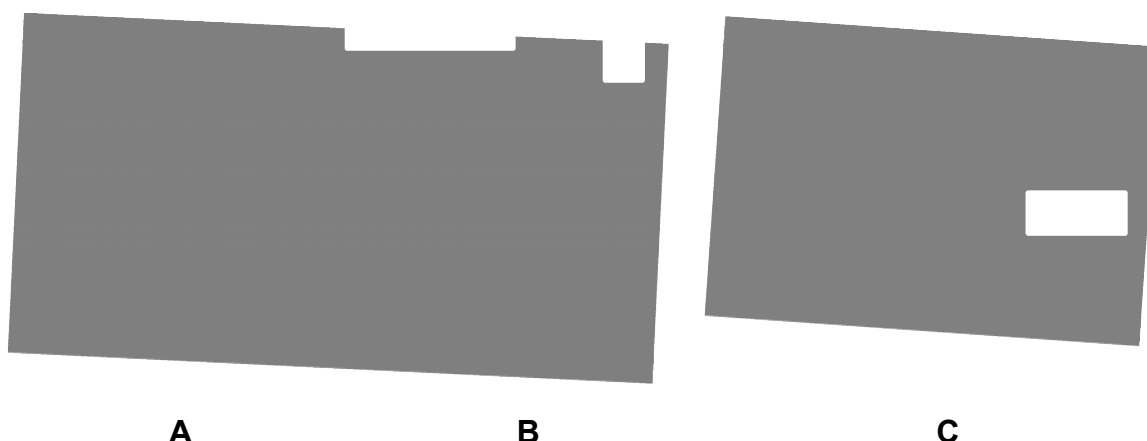


Figura 1.3 - Estruturas de compostos esteróides, a estrutura base dos estrogéneos naturais (A), o natural 17β -estradiol (B); e o sintético 17α etenilestradiol (C) (Birkett, 2003).

A identificação de diversos requisitos estruturais para a estrogenicidade, é baseada em estudos do estradiol. A posição relativa do grupo hidróxido (OH) no anel-A, e a falta de interferência de um substituinte alquilo na posição orto, são consideradas cruciais para a elevada afinidade com o receptor de estrogéneo (Birkett, 2003).

Fitoestrogéneos - Os fitoestrogéneos são compostos derivados de plantas que possuem actividade estrogénica. O termo fitoestrogéneos é usado para definir uma classe de compostos não esteróides e que têm origem em plantas ou são produzidos in vivo pelo metabolismo através de precursores presentes em muitas plantas consumíveis por humanos. Do processo metabólico resultam a produção de fenóis heterocíclicos, de estrutura semelhante aos estrogéneos (Birkett, 2003).

A maior classe de fitoestrogéneos que se pode encontrar nas plantas é as isoflavonas, as quais se encontram em legumes, principalmente sementes de soja e produtos compostos por esta, como

farinha de soja e proteínas isoladas de soja que são utilizadas para substituir a carne, para produção de pão e barras energéticas.

Investigações desenvolvidas por Miksicek (1994), e posteriormente por Zava e Duwe (1997) revelaram que vários fitoestrogéneos têm uma fraca actividade estrogénica, na ordem dos 10^{-2} a 10^{-3} , quando comparada com o 17β -estradiol. Isto significa que a ligação destes compostos ao receptor de estrogéneo, induz uma resposta 100 a 1000 vezes mais fraca que o estrogéneo endógeno. Contudo, a presença de fitoestrogéneos no corpo humano pode ser bem mais elevada que a de estrogéneo (Birkett, 2003).

Embora estes compostos possuam actividade estrogénica, é geralmente aceite que os efeitos na dieta humana sejam benéficos.

Compostos orgânicos oxigenados

Bisfenol A - O Bisfenol A, é muito utilizado em processos industriais como monómero na produção de polímeros, policarbonatos, resinas, e ainda como fungicidas e agentes retardantes de chama. Também é usado em produção de plásticos destinados às embalagens de alimentos, como selante dentário, como antioxidante, entre outros (Birkett, 2003).

O valor do logaritmo do coeficiente octanol/água (K_{ow}) para o bisfenol-A é cerca de 3,4 indicando assim a sua lipofilia e a tendência para a adsorção em superfícies sólidas em ambientes aquáticos. Estudos efectuados sobre a actividade estrogénica desde composto, revelam que esta é cerca de 4 a 6 vezes mais fraca que a do 17β -estradiol (Birkett, 2003).

Ftalatos - Os ftalatos são muito utilizados no fabrico de PVC e outros polímeros, assim como em plastificantes e repelentes de insectos. Os plastificantes são normalmente usados em materiais de construção, mobiliários, transporte e roupa.

A preocupação quanto ao potencial para a saúde de vários ftalatos, consiste no facto de estes compostos serem usados para expandir maciez e flexibilidade aos produtos de PVC rígido normalmente nos brinquedos para crianças.

Certos ftalatos revelaram comportamento estrogénico, sendo que o potencial estrogénico é seis a sete vezes inferior que o dos estrogéneos endógenos. O valor do Log K_{ow} para este grupo de composto varia entre 1,46 e 13,1, aumentando a lipofilia com o comprimento da cadeia de alquilo presente na sua estrutura (Birkett, 2003).

Dioxinas e Furanos - As dioxinas e furanos não são substâncias produzidas comercialmente, mas são formadas como subprodutos de vários processos industriais e de combustão. As maiores fontes são as incineradoras, municipais, hospitalares ou de resíduos perigosos. Estes compostos são persistentes no ambiente e têm potencial para a bioacumulação, o que é causa para preocupação uma vez que as dioxinas e os furanos são caracterizados como cancerígenos, para além de apresentarem actividade estrogénica (Birkett, 2003).

Tensioactivos - Do grupo de compostos tensioactivos, os alquilfenóis (AP), são os que mais estudos têm suscitado, devido às suas características e ao seu uso comum em diversos produtos como fórmulas de detergentes, lubrificantes, tintas, têxteis, entre muitos outros.

Determinados AP, assim como os seus etoxilatos (APEO) e os carboxilatos (APEC), têm demonstrado exibir vários níveis de estrogenicidade (Routledge e Sumpter, 1997). Os alquilfenóis são moléculas compostas por um grupo alquilo, responsável pela sua característica hidrofóbica, e por um grupo fenol, cujo o valor de Log K_{ow} varia entre 4,17 e 4,48 (Birkett, 2003).

Bifenis Policlorados (PCB) - Os PCB são utilizados em várias aplicações indústrias devido à sua elevada estabilidade e resistência eléctrica. Têm o seu uso em fluidos dieléctricos de transformadores, plastificantes e compostos de cimento, lubrificantes hidráulicos, plásticos, tintas e adesivos. Embora a produção destes compostos tenha sido proibida em muitos países, estima-se que tenham sido gerados mais de uma tonelada de PCB, dos quais um terço pode ainda circular no meio ambiente (Birkett, 2003).

Na realidade existem aproximadamente 209 isómeros de PCB, todos exibindo vários níveis de toxicidade. Estes compostos apresentam ubiquidade no meio ambiente, possuindo também a capacidade de bioacumulação e biomagnificação. Os valores de Log K_{ow} variam entre 4,6 e 8,4 para os vários isómeros, sendo por isso compostos que rapidamente ficam adsorvidos em sedimentos ou outras matérias particuladas (Birkett, 2003).

1.4.2 Métodos de determinação de Compostos Disruptores

Existem vários métodos disponíveis para a determinação de compostos disruptores endócrinos (DE), sendo que para métodos selectivos é necessário definir concretamente os objectivos da análise a efectuar. Por exemplo, se o objectivo do estudo for avaliar a actividade estrogénica de algum efluente descarregado no meio receptor, então os testes *in vivo* e *in vitro*, são os mais indicados. No entanto, se o objectivo for identificar ou quantificar a presença de algum composto nesse mesmo efluente, as análises químicas são mais apropriadas (Voulvoulis e Scrimshaw, 2003).

Para avaliar a actividade estrogénica, muitos referem que os testes *in vitro* são mais económicos e são relativamente rápidos para a facilitar o rastreio de um grande número de compostos. Contudo estes testes possuem limitações, sendo preferível a utilização conjunta com testes *in vivo*, uma vez que estes permitem compreender a evolução dos impactes dos disruptores em todo o sistema endócrino (Voulvoulis e Scrimshaw, 2003).

O recurso a técnicas químicas permite monitorizar a presença de compostos associados a actividades estrogénicas no meio ambiente. Os métodos predominantes para a quantificação de DE, numa matriz como a água residual, são a cromatografia gasosa (GC) e a cromatografia líquida (LC).

A cromatografia gasosa é um tipo de cromatografia em que a fase móvel é um gás de transporte, geralmente um gás inerte, como o hélio, hidrogénio ou o azoto, e a fase estacionária é uma camada microscópica de polímero líquido, sobre um suporte sólido inerte, no interior de vidro ou de metal canalização, a qual se denomina coluna.

No que se refere à cromatografia líquida, é uma técnica de separação na qual a fase móvel é um líquido de baixa viscosidade. O LC pode ser efectuado com uma coluna ou uma superfície plana. Actualmente, a técnica mais utilizada consiste numa fase estacionária constituída por um adsorvente sólido, através do qual e por recurso a uma alta pressão se faz passar a fase estacionária e a amostra, sendo denominado de cromatografia líquida de alta precisão (HPLC).

O tipo de detector utilizado em ambos os sistemas, GC ou LC, depende dos compostos que se pretendem determinar. Porém, o método mais usual é a espectrometria de massa (MS) por garantir uma boa especificidade e sensibilidade.

Embora a técnica mais estudada seja o GC-MS, está limitada à utilização de compostos voláteis e estáveis termicamente (Voulvoulis e Scrimshaw, 2003), sendo também necessário ter em atenção os limites de detecção a que está restrito.

1.4.3 Programas ambientais para os Disruptores Endócrinos

O elevado nível de preocupação com os efeitos dos disruptores endócrinos em humanos e na vida selvagem, levou a medidas de legislação ao nível mundial e a programas de pesquisa para conseguir uma melhor compreensão do problema destes compostos e os seus potenciais efeitos sobre a saúde (Birkett, 2003).

Com o aumento da preocupação pública e à medida que novas provas foram obtidas de que se poderia associar os problemas potenciais e a desregulação endócrina, a Comissão Europeia foi levada a estabelecer uma estratégia com base legislativa para os disruptores endócrinos. Em 1999, para responder rápida e eficazmente às preocupações e recomendações destacadas em relatórios desenvolvidos anteriormente, a Comissão, adoptou uma estratégia que estava em consonância com o princípio da precaução. Esta estratégia, conhecida como a “Estratégia comunitária em matéria de disruptores endócrinos” enunciou as acções que seriam tomadas para resolver os potenciais impactos no ambiente e na saúde causados pela disrupção endócrina (EU, 2008).

A Comissão Europeia desenvolveu assim uma lista com as substancias prioritárias, e as quais têm sido alvo de estudo evolutivo, para que todas as decisões fossem tomadas com o maior conhecimento possível. Actualmente essa lista já se encontra na sua terceira versão (EU, 2008).

1.5 Propriedades dos compostos em águas residuais

A libertação dos compostos disruptores endócrinos para o meio aquático tem posto em evidência o papel que o efluente das ETAR tem na diminuição da qualidade da água. No que respeita à contaminação de massas de água fluviais, o efluente final da estação de tratamento constitui a principal fonte de contaminação pontual. Tal facto pode, da mesma forma, sugerir o sucesso das autoridades e dos organismos de regulação em minimizar as outras fontes (Birkett, 2003).

A natureza não polar e hidrofóbica de muitos compostos disruptores endócrinos faz com que estes se juntem às partículas. Tal sugere que no decorrer dos processos de tratamento da ETAR estes se concentrem na fase sólida. As técnicas de separação mecânica, como a sedimentação, contribuem significativamente para a remoção destes compostos da fase líquida, transferindo-os para as lamas primárias e secundárias (Langford e Lester, 2003). A remoção destes compostos em ETAR é dependente das propriedades físico-químicas que cada poluente possui, assim como da natureza dos processos de tratamento envolvidos. Como resultado, o efluente tratado sai relativamente livre de compostos disruptores e a lama tratada contém a maioria da contaminação proveniente do afluente.

O conhecimento das características físico-químicas dos DE pode ser útil na antevisão dos processos físicos, como a absorção, volatilização e dissolução. As propriedades mais importantes a considerar são o coeficiente de partição água/octanol (K_{ow}), solubilidade em água, constante de acidez e a constante de Henry (H_c). O conhecimento da partição química entre a fase líquida e

sólida é necessário para perceber os caminhos de transporte e de transformação dos compostos endócrinos (Langford e Lester, 2003).

1.5.1 Mecanismos de remoção na linha de tratamento da fase líquida

No decorrer do tratamento da fase líquida, são vários os processos onde pode ocorrer efectivamente remoção de compostos poluentes. No tratamento preliminar, os DE podem ser removidos do efluente por adsorção a óleos e gorduras, sendo que no tratamento primário a quantidade de poluente removido nesta etapa é dependente da remoção de sólidos suspensos, o que por sua vez é controlado pelas características das partículas presentes, do tempo de retenção no decantador e da carga hidráulica.

Os caminhos para a remoção de poluentes orgânicos no tratamento secundário incluem a adsorção aos flocos biológicos, a purga das lamas biológicas, a degradação química, a degradação e transformação biológica e a volatilização durante o arejamento.

1.5.1.1 Adsorção

Nas lamas secundárias, a vasta presença de microrganismos providencia uma grande área superficial. Os disruptores adsorvem-se preferencialmente às partículas suspensas devido às suas propriedades hidrofóbicas.

O valor de K_{ow} é a razão da concentração em equilíbrio de um composto orgânico entre um líquido orgânico e a água, e é das propriedades físicas a que melhor se relaciona com a actividade biológica. Também pode ser utilizada como medida da lipofilia, e consequentemente para prever a adsorção aos sólidos (Langford e Lester, 2003).

Os valores de $\log K_{ow}$ aumentam com o aumento da afinidade aos lípidos e inversamente proporcional com a solubilidade. Os altos valores de $\log K_{ow}$ são característicos de moléculas hidrofóbicas grandes que tendem a associar-se com a matéria sólida, enquanto as moléculas hidrofóbicas pequenas têm valores de $\log K_{ow}$ mais baixos (Langford e Lester, 2003).

Quando se considera a adsorção, também existe outro parâmetro importante. O K_{oc} é a relação entre a concentração de carbono de um composto orgânico em equilíbrio, e a sua concentração em água. A probabilidade de um composto se adsorver na matéria orgânica pode ser determinada através do $\log K_{oc}$. Geralmente compostos com valores elevados de $\log K_{oc}$ revelam tendência para

a adsorção às lamas, enquanto os compostos com valores reduzidos revelam tendência para continuarem na fase líquida (Langford e Lester, 2003).

Assim como a adsorção em sólidos suspensos é um mecanismo de remoção, é possível que os compostos poluentes também se adsorvam às matérias gordas existentes na água residual. O efluente doméstico contém geralmente gorduras, óleos e detergentes. Alguns desses compostos são resistentes à degradação e podem contaminar o meio receptor.

O aumento da idade de lamas reduz a quantidade de lamas que são removidas do sistema de tratamento de lamas activadas. Como resultado existe um decréscimo na concentração do composto no efluente final, devido ao aumento das taxas dos mecanismos de remoção (Langford e Lester, 2003).

A absorção em sólidos inorgânicos e sólidos biológicos é um mecanismo de remoção importante porque a adsorção em material celular é sempre o primeiro passo na degradação biológica desses compostos. Contudo, compostos que estão fortemente ligados a partículas inorgânicas estão menos disponíveis a processos como a degradação e a volatilização. Compostos orgânicos são adsorvidos ao grosso dos sólidos presentes no efluente durante o tratamento primário, e as lamas biológicas durante o tratamento secundário (Langford e Lester, 2003).

A acumulação de compostos nas lamas biológicas pode ocorrer por diversos mecanismos, como a absorção em estruturas de lípidos das bactérias, a adsorção em estruturas polissacarídicas localizadas no exterior das células bacterianas, e a ligação química às proteínas e ácidos nucleicos das bactérias (Langford e Lester, 2003).

1.5.1.2 Degradação e transformação biológica

Numerosos factores químicos, como as propriedades estruturais e factores ambientais, influenciam a biodegradabilidade.

Geralmente moléculas compostas por cadeias ramificadas são menos expostas à biodegradação que moléculas de estrutura linear, assim como cadeias mais curtas não são tão facilmente degradadas como as de cadeia longa.

A degradação biológica pode ocorrer como resultado da acção de enzimas intracelulares e extracelulares. O processo de hidrólise, por exemplo, envolve a regulação de síntese de enzimas extracelulares nas células. Este processo ocorre pelas enzimas segregadas pelas células antes do substrato poder ser utilizado pelos microrganismos e ser metabolizado (Okutman e Orhon, 2001).

As propriedades químicas de cada composto influenciam a sua entrada nas células microbianas, o que torna um pré-requisito para a acção de enzimas intracelulares. Reacções que envolvem enzimas extracelulares são importantes para um grande volume de moléculas e possivelmente para moléculas com uma grande massa molecular. Estas enzimas são excretadas pelas células para a solução ou são libertadas quando ocorre a lise celular em células envelhecidas (Langford e Lester, 2003).

Um elevado tempo de retenção hidráulico (t_{rh}) no reactor biológico permite que haja mais tempo de degradação. Por sua vez, uma elevada idade de lamas pode influenciar os microrganismos e a natureza física das partículas floculadas, que por sua vez pode ter um efeito importante na sua afinidade como adsorventes (Jonhson *et al.*, 2000). Com uma idade de lamas pequena, o crescimento de microrganismos específicos de degradação pode ser interrompido antes da degradação ocorrer, se a taxa de crescimento dessa população microbiana for menor que a idade de lamas. A biodegradação é então reduzida e a adsorção passa a ser o principal mecanismo de degradação.

Com o aumento da idade de lamas, a biodegradação ocorre durante um período de tempo superior e passa a ter mais influência na remoção de disruptores.

A idade de lamas onde ocorre o máximo de biodegradação é em função do $\log K_{ow}$ e da taxa de biotransformação do composto. Assim, para a biodegradação de compostos bastante hidrofóbicos são necessários valores elevados de idade de lamas (Langford e Lester, 2003).

Ao contrário dos compostos naturais, os compostos antropogénicos tendem a ser muito resistentes à biodegradação. Porém pode ser facilitado pelo co-metabolismo de alguns microrganismos, que consiste em reacções metabólicas que não contribuem com carbono ou energia para o crescimento biológico dos microrganismos (Langford e Lester, 2003).

1.5.1.3 Volatilização

A volatilização é a transferência de um composto da fase aquosa para a atmosfera, a partir da superfície livre, como por exemplo num decantador. Contudo, as maiores perdas ocorrem através de valas de oxidação. Uma porção pode ser transferida durante o tratamento da fase sólida, na fase de desidratação ou de espessamento, particularmente se as lamas são arejadas ou agitadas. No processo de lamas activadas o tanque de arejamento permite a transferência para a atmosfera de certos compostos, como os de baixo peso molecular ou os não polares com baixa solubilidade em água. Contudo, devido à sua natureza estática no processo de sedimentação, a remoção por

volatilização é pequena. Um pico de remoção é visto em compostos com valores de Log K_{ow} por volta de 2. Abaixo desse valor, aumenta a solubilidade e a inibição da volatilização (Langford e Lester, 2003).

1.5.2 Mecanismos de remoção na linha de tratamento da fase sólida

O destino de compostos orgânicos, no decorrer de processos de tratamento de águas residuais, é controlado por processos físicos, químicos e biológicos. A presença de compostos em lamas primárias e secundárias é predominantemente determinado pela sua afinidade com a fase sólida, no decorrer das anteriores etapas de tratamento. Estes compostos são normalmente recalcitrantes, não sendo facilmente degradados por vias metabólicas aeróbias, e estáveis quimicamente, em termos do seu estado de oxidação e hidrólise (Scrimshaw e Lester, 2003).

É possível identificar os compostos de maior interesse em lamas de ETAR, através de uma amostragem de campo, análises e modelos que predizem o destino dos compostos nas linhas de tratamento. Geralmente, quanto mais hidrofóbico for um composto, mais significativa será a sua presença nas lamas. Esta transferência tem sido referenciada como uma consequência da remoção de contaminantes da água residual (Scrimshaw e Lester, 2003).

No tratamento anaeróbio o principal mecanismo de remoção é efectivamente pela acção dos microrganismos. Os mecanismos de biodegradação anaeróbia são diversos, e dependem largamente das características estruturais e químicas dos compostos poluentes.

1.6 Caso de estudo

O grupo de compostos que serão alvo de estudo, serão os tensioactivos, mais precisamente os alquilfenóis, devido à sua presença massiva no efluente doméstico, e por se ter identificado em Portugal, o seu elevado contributo para a actividade estrogénica do efluente final de uma estação de tratamento (Maurício *et al*, 2006) .

A primeira evidência de que os AP pudessem apresentar actividade estrogénica foi publicada em 1938 por Dodds e Lawson, mas foi Soto e colaboradores que acidentalmente observaram que o nonilfenol era capaz de induzir a proliferação de células cancerígenas no pulmão (Soares *et al.*, 2007). Devido às suas aplicações comuns em diversos produtos domésticos, industriais e comerciais, a principal fonte de contaminação do ambiente é através do efluente final da ETAR (Birkett, 2003). Contudo, os APEO que estão no afluente da ETAR são compostos estáveis e com

baixa capacidade estrogénica. É no decorrer do tratamento biológico que ocorre uma degradação incompleta destes compostos, produzindo metabolitos que são descarregados com o efluente final. São esses metabolitos que são alvo de preocupação, uma vez que têm uma actividade estrogénica superior à dos seus precursores. Esses metabolitos são o octilfenol e o nonilfenol, compostos estes utilizados na génese dos APEO. Da produção total de alquilfenóis etoxilatos, 20 % correspondem à produção de octilfenol etoxitato e 80 % à produção de nonilfenol etoxilato (Staples *et al.*, 2001).

1.6.1 Características dos Compostos alvo

1.6.1.1 Octilfenol

O 4-*tert*-Octilfenol (OP) é um alquilfenol intermediário na produção de alquilfenóis etoxilatos (APEO). Após vários registos que comprovavam a sua capacidade estrogénica em peixes, aves e células de mamíferos, o OP foi considerado um estrogénico ambiental que pode interferir no desenvolvimento reprodutivo de espécies selvagens e de humanos (White *et al.*, 1994); (Boockfor and Blake, 1997). Devido às suas propriedades físico-químicas, evidenciadas no Quadro 1.3, o OP é o composto alquilfenol com maior potencial estrogénico (White *et al.* 1994).

Quadro 1.3 – Características do 4-Octilfenol (Holbrook *et al.* 2004)

Peso Molecular	206.32
Fórmula Molecular	C ₁₄ H ₁₂ O
Solubilidade (mg/L)	4.52
Log K _{ow}	5.85
pK _a	10.24

O OP é uma molécula composta por um grupo alquilo, responsável pela sua característica hidrofóbica, e por um grupo fenol. Devido à sua cadeia linear hidrocarbonatada, o seu coeficiente de partição K_{ow} (octanol/água) é elevado, revelando tendência para a adsorção em matérias sólidas no ambiente e para a bioacumulação (Birkett, 2003). Contudo, estudos efectuados sobre a estrogenicidade dos compostos APEOs, revelam que o comprimento da cadeia carbonatada determina o potencial estrogénico de cada composto, enquanto que outros estudos, que

relacionam a estrutura com a actividade estrogénica, complementam que a posição (para > meta > orto) e a ramificação do grupo alquilo, também têm efeito no potencial estrogénico (Birkett, 2003). Efectivamente, devido à sua estrutura, apresentada na Figura 1.4, o OP possui as características que o definem como o composto da sua família química com maior potencial estrogénico.

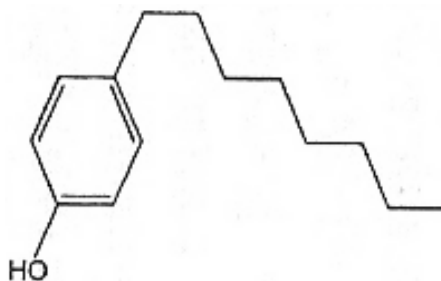


Figura 1.4 – Estrutura do 4-Octilfenol (Lee *et al.* 2008)

1.6.1.2 Nonilfenol

O NP tem um elevado benefício económico e uma excelente performance, reflectindo-se no uso generalizado em diversas aplicações industriais, comerciais e institucionais, como detergentes, agentes emulsionantes, agentes anti-estáticos, entre outros (Langford e Lester, 2003). A toxicidade deste composto tem sido alvo de uma considerável atenção. Várias observações realizadas demonstram a capacidade do NP em interferir com vários tipos de células e órgãos, detendo uma habilidade de induzir diversas respostas, tornando imprevisível o conhecimento de todos os seus efeitos nos organismos (Soares *et al.*, 2007).

Análises em larga escala efectuadas em estações de tratamento, demonstraram que o NP ocorre frequentemente como um intermediário estável em efluentes finais e em lamas, com uma elevada incidência em estações de tratamento de águas residuais com carácter industrial, ou em zonas com elevada densidade populacional (Langford e Lester, 2003).

A Figura 1.5, ilustra a sua estrutura molecular e as principais características físico-químicas. Devido a essas características, o NP é insolúvel e com tendência para a adsorção em superfícies sólidas, como sedimentos, microrganismos ou outras matérias particulada. Possui potencial para bioacumulação em matérias gordas, como sejam a gordura animal (Ahel *et al.*, 1993).

Para que o NP apresente actividade estrogénica, é determinante que o grupo OH se encontre na posição *para*, e que o grupo alquilo ramificado esteja numa determinada posição, o que explica que

nem todos os isómeros do NP são capazes de induzir uma actividade estrogénica (Soares *et al.*, 2007).

Molecular formula: C₁₅H₂₄O

Molecular weight: 220.34 g/mol

Density at 25°C: 0.952 g/cm³ ^(a)

Solubility in water: 4.9 mg/l ^(b)

Solubility in organic solvents: Soluble in most organic solvents

pKa: 10.28 ^(c)

Partition coefficient (log K_{ow}): 4.48 ^(d)

Vapour pressure at 25°C: 2.07·10⁻² Pa ^(e)

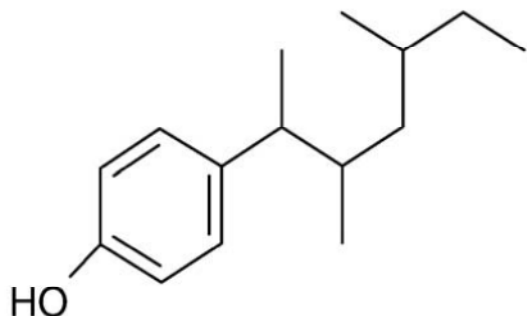


Figura 1.5 – Uma das estruturas possíveis do nonilfenol (direita), e as suas propriedades físico-químicas (esquerda) (Soares *et al.*, 2007).

1.6.2 Comportamento e destino dos Alquilfenóis em ETAR

Em ambientes aeróbios a oxidação da cadeia de polietoxilato ocorre rapidamente. Contudo, a mineralização completa dos APEO é mais difícil, devido ao grupo alquilo muito ramificado ligado ao anel fenólico. O grupo hidrofílico na molécula de APEO possui mais carbono que o grupo hidrofóbico, pelo que é mais facilmente biodegradado. À medida que a cadeia de APEO é consumida, são formados metabolitos cada vez mais insolúveis, e assim a sua biodegradação é mais difícil (Langford e Lester, 2003). Assim se conclui que a degradação ocorre em duas etapas. A primeira ocorre rapidamente e resulta da clivagem ou a oxidação da cadeia de etoxilatos. A segunda etapa requer mais tempo pois é necessário que uma específica população de bactérias ou enzimas sejam desenvolvidas, o que normalmente não estão disponíveis ao início. A Figura 1.6 apresenta uma teoria dos passos de degradação do APEO, e que é passível de ocorrer no reactor biológico.



Figura 1.6 – Etapas teóricas de degradação do APEO no decorrer do tratamento (Langfor et al., 2003).

A temperatura é um parâmetro importante na remoção alquilfenóis nas estações de tratamento. As eficiências de remoção no verão são superiores às registadas no inverno, uma vez que o metabolismo dos microrganismos é mais lento a baixas temperaturas, o que faz também decrescer a biodegradação (Langford e Lester, 2003). O tempo de aclimatização necessário para as bactérias também está relacionado com a temperatura.

Assim sendo, também a biodegradação do nonilfenol pode ocorrer através da acção de microrganismos, sendo contudo limitada pela presença de oxigénio e pela biodisponibilidade. Nas áreas contaminadas pelo NP foram encontrados organismos capazes de o degradar, tais como a flora endógena, após ser sujeita a aclimatização, ou seja, após adaptar-se à presença do contaminante (Soares *et al.*, 2007).

A ocorrência de alquilfenóis nas lamas biológicas é bastante significativa, tendo-se registado grandes concentrações dos seus produtos de degradação. As concentrações de NP em lamas biológicas são superiores a 3,6 mg/kg e as de OP a 0,2 mg/kg. Porém, as concentrações observadas em lamas digeridas, são frequentemente superiores às observadas nas lamas resultantes dos tratamentos primários e secundários, tendo sido registado concentrações de NP em lamas digeridas que chegam a valores de 250 mg/kg (Scrimshaw e Lester, 2003).

A capacidade de bactérias anaeróbias degradarem os APEO em NP, aparenta ser comum em lamas provenientes de digestores anaeróbios, de aterros ou de resíduos municipais. Todavia, estudos efectuados com o ^{14}C indicam que a completa degradação ou mineralização de NP não

ocorre em nenhuma das amostras de lamas, o que corrobora o facto de este composto ser recalcitrante no meio ambiente (Scrimshaw e Lester, *et al.*, 2003).

Estudos efectuados recentemente, referem que a degradação do NP em condições anaeróbias apresenta taxas de degradação decrescente, de acordo com as seguintes ambientes: redução de sulfatos> redução de metano> redução de nitratos (Soares *et al.*, 2007).

2 Objectivos

O presente trabalho tem como objectivo principal avaliar o balanço associado à degradação de compostos disruptores no tratamento biológico. Pretende-se analisar dois compostos alvo, o nonilfenol e octilfenol, e compreender o seu comportamento e destino num reactor biológico em *batch*.

3 Plano experimental

Para prossecução dos objectivos do trabalho, adoptou-se o Plano Experimental a seguir indicado.

FASE	DESCRIÇÃO
0	Aprendizagem e aperfeiçoamento de técnicas operatórias e analíticas a utilizar nas fases seguintes.
1	Recolha e adaptação de biomassa para ensaios de biodegradabilidade.
2	Ensaio de biodegradação com o Octilfenol.
3	Ensaio de biodegradação com o Nonilfenol.

4 Materiais e métodos

4.1 Materiais

4.1.1 Inóculo

Para a inoculação dos reactores foram utilizadas lamas secundárias em excesso provenientes de duas estações de tratamento de efluentes domésticos, ETAR de Cucena e ETAR de Chelas.

A ETAR de Cucena que se insere no Sistema Integrado Multimunicipal de Águas Residuais da Península de Setúbal, (SIMARSUL S.A.), apresenta uma capacidade de 3 360 m³/dia de caudal médio diário, assistindo uma população de 24 000 (hab. eq) (SIMARSUL, 2007). A amostra obtida nesta estação de tratamento foi utilizada como inóculo para o primeiro ensaio.

A ETAR de Chelas está incluída na empresa concessionária do Sistema Multimunicipal de Saneamento do Tejo e Trancão (SIMTEJO), funcionando com um caudal médio diário anual de 49 000 (m³/dia), processando, principalmente águas residuais urbanas, atendendo uma população de cerca de 211 000 habitantes (Maurício *et al.* 2005). A amostra obtida foi utilizada como inóculo para o segundo ensaio.

Após a recolha, os efluentes foram transportados em recipientes fechados até ao laboratório, iniciando-se de imediato a sua adaptação.

4.1.2 Substrato

Os inóculos utilizados nos dois ensaios foram adaptados com concentrações crescentes de oligonutrientes e de glucose, como fonte de carbono, de acordo com a composição descrita no Quadro 4.1 e Quadro 4.2.

Quadro 4.1– Composição da alimentação do inóculo para o primeiro ensaio.

Composto	Dose	Unidades
(NH ₄) ₂ SO ₄	2,1	g (NH ₄) ₂ SO ₄ .d ⁻¹
K ₂ HPO ₄	1,96	g K ₂ HPO ₄ .d ⁻¹
NaCl	0,49	g NaCl.d ⁻¹
CaCl ₂ · 2H ₂ O	0,28	g CaCl ₂ · 2H ₂ O.d ⁻¹
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0,14	g MgSO ₄ · 7H ₂ O.d ⁻¹
C ₆ H ₁₂ O ₆	20	g C ₆ H ₁₂ O ₆ .d ⁻¹

A dosagem caracterizada no quadro anterior foi utilizada para um volume de lamas de 60L, num periodo de 30 dias, ao fim do qual se atingiu a concentração se SSV desejada.

Quadro 4.2 - Composição da alimentação do inóculo para o segundo ensaio.

Composto	Concentração	Unidades
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	5,25	$\text{g } (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot \text{d}^{-1}$
K_2HPO_4	4,9	$\text{g } \text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{d}^{-1}$
NaCl	1,225	$\text{g } \text{NaCl} \cdot \text{d}^{-1}$
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,7	$\text{g } \text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} \cdot \text{d}^{-1}$
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,35	$\text{g } \text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} \cdot \text{d}^{-1}$
$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	50	$\text{g } \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \cdot \text{d}^{-1}$

A dosagem caracterizada no quadro anterior foi utilizada para um volume de lamas de 50L, num periodo de 10 dias, ao fim do qual se atingiu a concentração se SSV desejada.

4.1.3 Compostos

O presente trabalho centrou-se no estudo de dois compostos, o 4-*tert*-Octilfenol (OP) e o 4-n-Nonilfenol (NP).

4.2 Métodos

4.2.1 Métodos Analíticos

4.2.1.1 Sólidos Suspensos Voláteis (SSV)

A determinação dos sólidos suspensos totais (SST) e dos SSV foi realizada segundo Standard Methods (APHA AWWA WEF, 1998). Os sólidos em suspensão foram obtidos por filtração da amostra através de um filtro GF/C WHATMAN, previamente tarado, seguido de secagem a 100 °C numa estufa SELECTA. Os SSV foram determinados pela calcinação da matéria seca à temperatura de 550 °C, numa estufa HERAEUS. As pesagens envolvidas foram realizadas numa balança analítica METTLER AE 200.

4.2.1.2 Carência Química de Oxigénio (CQO)

A determinação da CQO foi realizada conforme o procedimento descrito no capítulo 5000, secção 5220 B do Standard Methods (APHA AWWA WEF, 1998). A digestão das amostras foi efectuada num aparelho Vittadini RCOD/19. Foram apenas efectuadas análises da CQO solúvel, realizando-se uma filtração prévia da amostra com filtros GF/C Whatman.

4.2.1.3 Extracção e Concentração de Amostras

O primeiro passo no tratamento de cada amostra consistiu na separação de fases através do uso da centrífuga KUBOTA 5800.

O tratamento da fase líquida foi relativamente simples, efectuando uma filtração em vácuo antes de proceder à extracção em fase sólida (SPE).

À fase sólida foi adicionada 40 ml de uma solução de diclorometano-metanol (7:3), e levada posteriormente a um sonificador por 15 minutos, ao fim dos quais se retirou a fracção líquida e se sujeitou a fracção sólida ao mesmo procedimento. A fracção líquida obtida foi levada a um rotavapor, a 30 °C até restar apenas 1 ml. Seguidamente foi diluído em 100 ml de água destilada.

A extracção em fase sólida foi feita com cartridges OASIS HLB 3cc (Waters, USA). O condicionamento foi feito com 6 mL de Metanol e 3 mL de água destilada. A amostra líquida foi percolada através da cartridge a uma taxa de 6mL/min. Após a devida passagem da amostra, os compostos adsorvidos foram extraídos com 6 ml de acetona.

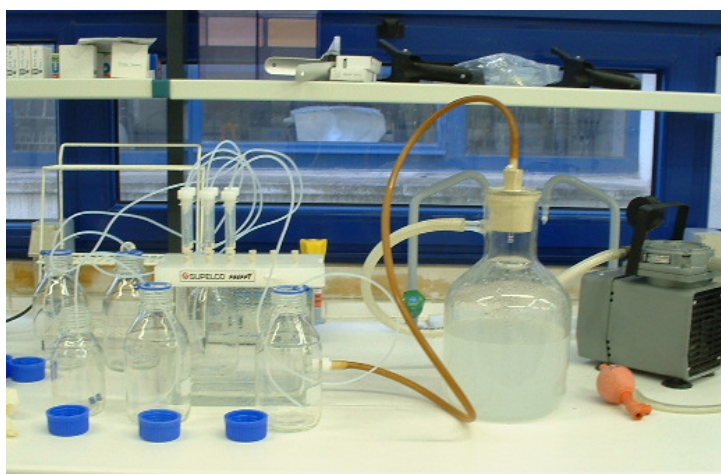


Figura 4.1 – Montagem da extracção em fase sólida.

Todas as amostras foram posteriormente concentradas a 1 mL, com recurso ao fluxo de azoto. O procedimento foi contínuo para cada amostra, sendo posteriormente conservados a 4°C até à análise em GC/MS.

4.2.1.4 Determinação GC/MS

Para a quantificação dos compostos em estudo recorreu-se à análise por cromatografia gasosa num aparelho FISIONS GC 8000 series, com espectrometria de massas (MD 800). A coluna utilizada foi apolar, BPX 5 (30 m de comprimento, 0,25 µm de espessura, e 0,25 mm de diâmetro interno), com um fluxo de He de 110 KPa, sendo a temperatura do injectador de 250 °C, para os dois ensaios. As temperaturas de interface (linha de transferência) e da fonte iónica foram de 280 e 200°C, respectivamente. Em todas as análises efectuadas, o volume utilizado da amostra foi sempre de 1 µL.



Figura 4.2 – Equipamento de GC/MS utilizado.

Para a determinação dos tempos de retenção do OP e do NP, foram analisadas amostras padrão com o mix dos dois compostos no modo *full scan*. A rampa de temperaturas utilizada teve início a uma temperatura inicial de 60 °C, durante 5 minutos no primeiro passo, aumentando a uma taxa de 8°C/min até os 200°C, no qual ao fim de 5 minutos nessa temperatura, subiu novamente até os 280°C, a uma taxa de 10°C/min, onde permaneceu durante 5 minutos até terminar. Os dados foram analisados com recurso ao *software* MassLab, e tempos de retenção e os *m/z* seleccionados, encontram-se no Quadro 4.3.

Quadro 4.3 – Características de retenção dos composto seleccionados

	4-n-Nonilfenol	4-tert-Octilfenol
Tempo de retenção	12 – 12,9	11,3
Canal de ionização (m/z)	107, 220	107, 135, 206

Para a quantificação das amostras nos ensaios com o OP e o NP, adoptou-se o modo SIM (*Selected ion mode*). No caso das amostras com OP, utilizou-se uma rampa com temperaturas entre os 100°C (temperatura inicial, 1 minuto) e os 280°C, a uma taxa de 15°C/mint. No que diz respeito às amostras com NP, utilizou-se uma rampa com temperaturas entre os 100 (temperatura inicial, 1 minuto) e os 300°C, a uma taxa de 15°C/mint.

4.2.2 Modo Operatório

4.2.2.1 Adaptação da Biomassa

A adaptação da biomassa foi feita num reactor, com alimentação diária. O arejamento foi efectuado por ar difuso, fornecido por compressor. O crescimento das lammas foi acompanhado por análises periódicas de sólidos suspensos voláteis (SSV) e da carência química de oxigénio (CQO).

A biomassa esteve contida num reactor do tipo “bidon”, sujeita a um arejamento contínuo, no caso da preparação do ensaio com o Octilfenol, e periódico no caso da preparação do ensaio com o Nonilfenol, devido a tratar-se de biomassa com diferente proveniência, e alimentada de modo semelhante diariamente.

4.2.2.2 Ensaios de Biodegradação

No âmbito da presente investigação, elaboraram-se dois ensaios laboratoriais para cada composto em estudo. Os ensaios consistiram na montagem de dois reactores de biomassa suspensa, com parâmetros e condições idênticas, sendo a variante em análise a concentração do composto tóxico, de modo a avaliar a sua contribuição para o balanço associado à degradação desse mesmo composto. O arejamento foi efectuado de maneira idêntica ao do reactor utilizado na adaptação da biomassa.

Os reactores funcionaram em *batch* e em sistema de baixa carga. As características de cada ensaio encontram-se no Quadro 4.4.

Quadro 4.4 – Características dos reactores utilizados nos ensaios.

Ensaio	Reactor		Volume do Reactor (L)	Duração do ensaio (dias)	Concentração de Glucose (g/L.d ⁻¹)	Idade de Lamas- θ_c (d)	Volume da amostra (L)
	A	B					
4-tert-Octilfenol	5 mg OP/L	10 mg OP/L	20	15	0,5	≥ 30	0,5
4-n-Nonilfenol	2 mg NP/L	7 mg NP/L	12	10	3,7	≥ 30	0,35

No decorrer do ensaio com o OP, as amostras foram retiradas em dias alternados, sendo que a primeira amostra foi efectuada 24 horas após o início do mesmo.

Para o ensaio com o NP, a primeira amostra foi recolhida após 1 hora após o início do ensaio, e a segunda amostra após 24h, sendo as restantes em dias alternados.

As amostras foram retiradas logo após a paragem do arejamento, de modo a garantir amostras homogéneas.

5 Apresentação e Exploração de Resultados

5.1 Adaptação da Biomassa

No arranque dos ensaios com o composto Octilfenol, o inóculo apresentava as características presentes no Quadro 5.1

Quadro 5.1 – Valores médios dos parâmetros analisados no início dos ensaios com o Octilfenol.

SST	(g/L)	4,6
SSV	(g/L)	5,2
CQO	(mg O ₂ /L)	728
V _{reactor}	(L)	20

No arranque dos ensaios com o composto Nonilfenol, ambos os reactores (A e B) apresentavam características idênticas, revelados no Quadro 5.2.

Quadro 5.2 – Valores médios dos parâmetros analisados no início do ensaio com o Nonilfenol.

SST	(g/L)	8,1
SSV	(g/L)	5,8
CQO	(mg O ₂ /L)	-
V _{reactor}	(L)	12

5.2 Ensaios de Biodegradabilidade

Após a realização dos ensaios foi determinado a percentagem de recuperação do método empregue. O composto utilizado foi o NP, obtendo-se uma percentagem de recuperação de 70%. Assim, os valores doravante apresentados incluem a percentagem apurada, sendo por isso denominados de valores reais. Os resultados completos encontram-se em Anexo.

Foram efectuadas amostras em branco, em ambos os ensaios de modo a determinar a existência de contaminação original do inóculo. Os resultados foram negativos, garantindo que os inóculos se encontravam isentos da presença dos compostos em estudo, antes do início dos ensaios.

5.2.1 Octilfenol

Após os quinze dias de ensaio, a evolução dos resultados obtidos na fase líquida e na fase sólida, encontra-se esquematizada na Figura 5.1 e Figura 5.2, respectivamente.

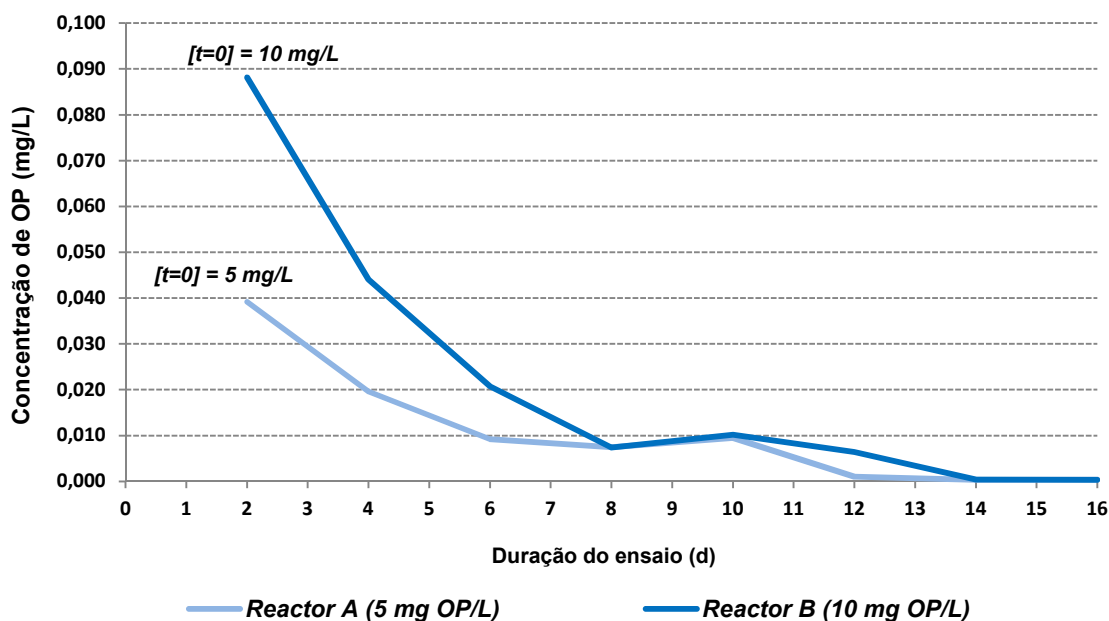


Figura 5.1 – Evolução da concentração de Octilfenol, presente na fase líquida no decorrer dos ensaios.

A apresentação gráfica dos resultados obtidos para a fase líquida, apresentados na Figura 5.1, não inclui os valores iniciais da concentração de OP, de modo a permitir uma percepção gráfica da evolução dos mesmos. Assim sendo, os resultados obtidos permitem verificar que decorridas apenas 24 horas após o início do ensaio, a concentração de OP presente na fase líquida é substancialmente reduzida, comparativamente às concentrações iniciais, para ambos os reatores. No decorrer do ensaio, os valores obtidos revelaram uma tendência de remoção de OP da fase líquida. Efectivamente, embora a concentração inicial do reactor B fosse o dobro da concentração no reactor A, no final do ensaio, ambos os reatores revelaram presenças vestigiais de OP na sua fase líquida, estando os valores na ordem dos 10^{-4} mg OP/L.

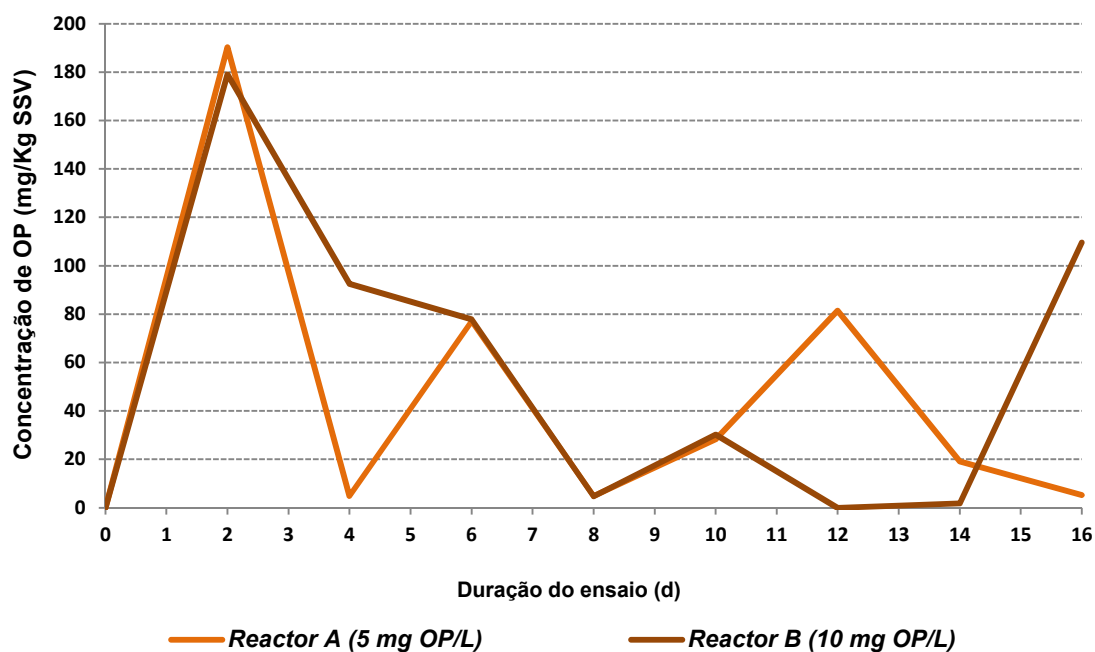


Figura 5.2- Evolução da concentração de Octilfenol, presente na fase sólida, no decorrer dos ensaios

Atendendo ao facto de os reactores A e B terem sido contaminados com OP através de uma solução aquosa, admitiu-se para efeitos deste estudo, que no momento inicial do ensaio não existe concentração de OP na fase sólida.

Ao analisar os resultados obtidos nas amostras recolhidas da fase sólida (Figura 5.2), constata-se que a evolução dos mesmos não revela uma tendência clara. As descidas acentuadas não devem ser tidas em conta, uma vez que resultam provavelmente de um erro de leitura ou de uma perda efectiva no processamento da amostra. Efectivamente, o resultado da última amostra da fase sólida do reactor B, que sugere uma reintrodução de OP, regista um valor superior ao registado nas primeiras amostras. Muito embora este resultado não seja de todo surpreendente, nada se deve concluir uma vez que a hipótese de contaminação operacional é bastante plausível.

Para complementar a análise efectuada, foram calculadas as respectivas taxas de remoção para as fases em estudo, em ambos os reactores.

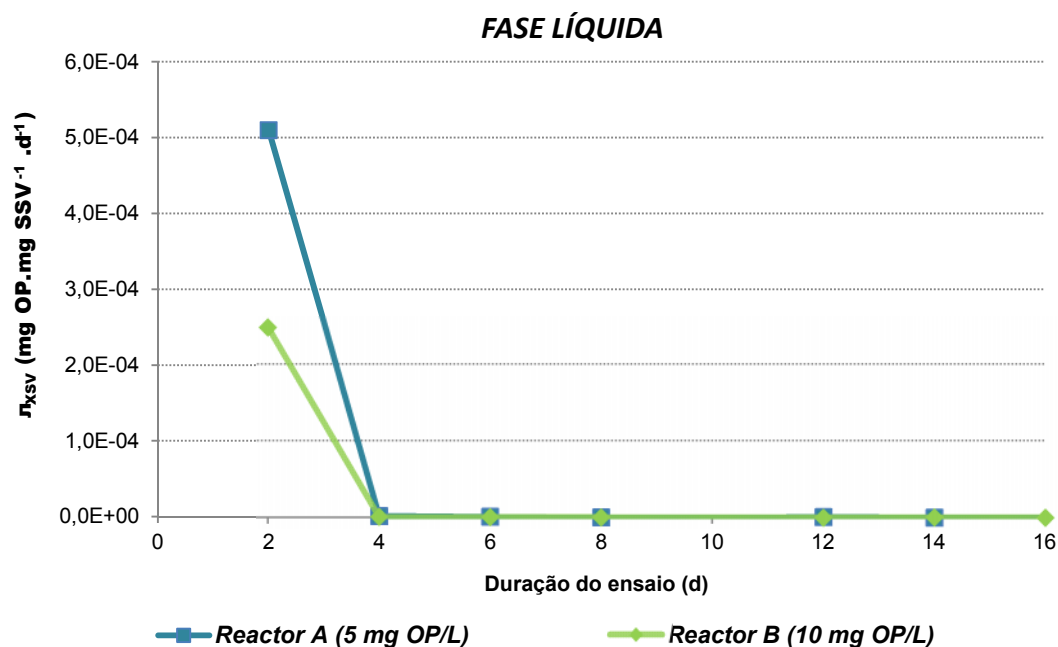


Figura 5.3 – Taxa de remoção específica do OP para a fase líquida, nos reactores A e B.

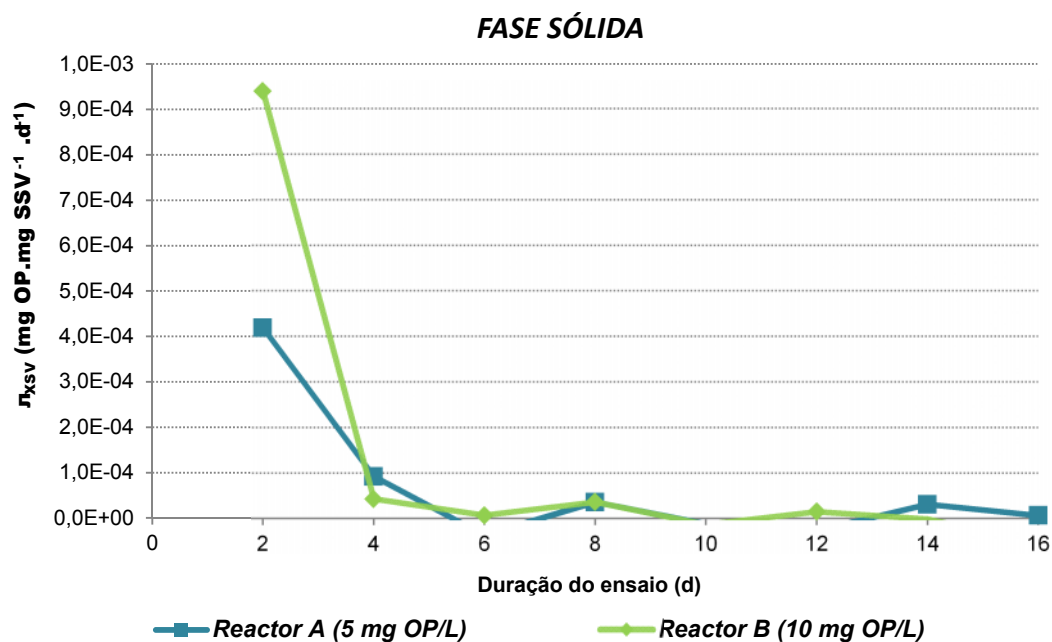


Figura 5.4 – Taxa de remoção específica de OP na fase sólida, dos reactores A e B.

Ao analisar graficamente as taxas de remoção específica (r_{xsv}), apresentadas no gráfico da Figura 5.3, até ao quarto dia do ensaio, a remoção de OP parece ser linear indicando assim uma cinética de remoção de ordem zero. Contudo, apenas se dispõe de dois valores de concentração até ao quarto dia, não sendo possível concluir qual o tipo de cinética real.

As características físico-químicas do OP indicam que o principal mecanismo de remoção da fase líquida consiste na transferência de fases. Assim sendo, é previsível a obtenção de taxas de remoção elevadas para a fase líquida, embora não relacionadas com a biodegradação do OP.

Na Figura 5.4, a evolução da n_{xSV} apresenta irregularidades devido à inconsistência dos valores de concentração obtidos.

De um modo semelhante à fase líquida, também a taxa de remoção para a fase sólida parece seguir uma tendência linear, principalmente ao analisar os primeiros quatro dias do ensaio. Contudo, as conclusões retidas não podem possuir um carácter definitivo, por a análise consistir em dois valores apenas.

Efectivamente, a remoção de OP na fase sólida da água residual pode-se relacionar com a sua degradação ou biodegradação, uma vez que a transferência de fases só ocorre da fase líquida para a sólida. Assim sendo, os resultados obtidos demonstram que o OP é degradado facilmente num reactor biológico. Contudo, estes resultados serão alvo de uma discussão mais aprofundada no capítulo seguinte.

Apesar da intenção de repetir o ensaio, de modo a obter resultados que permitissem conclusões mais robustas, a sua execução não foi possível por limitações de tempo e por a finalidade do estudo em si ter igualmente constrangimentos à continuação da prossecução dos trabalhos no âmbito desta dissertação.

Numa análise comparativa dos resultados obtidos para as fases líquidas e sólidas, comprova-se que existe mais presença de OP na fase sólida, em ambos os reactores (Figura 5.5 e Figura 5.6). Os valores obtidos na primeira amostra, mostram que a presença de OP na fase sólida representa cerca de 96 e 91 % da totalidade de OP presente nos reactores A e B, respectivamente. No término do ensaio, a quantidade do composto na fase sólida representa 100 % da totalidade de OP presente em qualquer dos reactores.

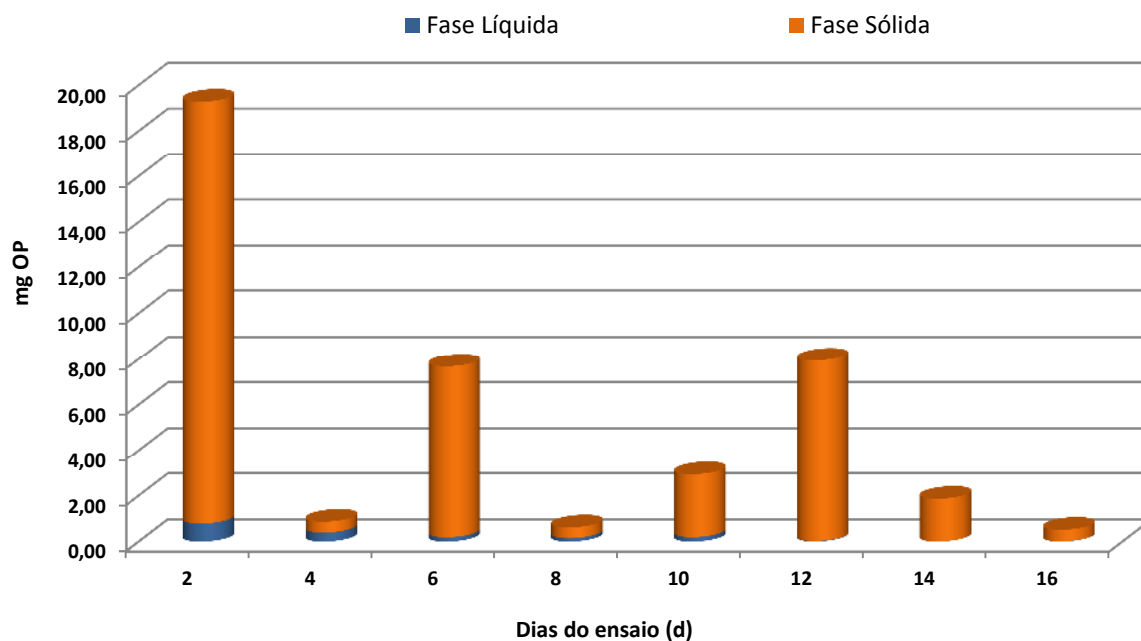


Figura 5.5 – Quantidade total de OP recuperado nas amostras do reactor A (5 mg OP/L),no decorrer do ensaio.

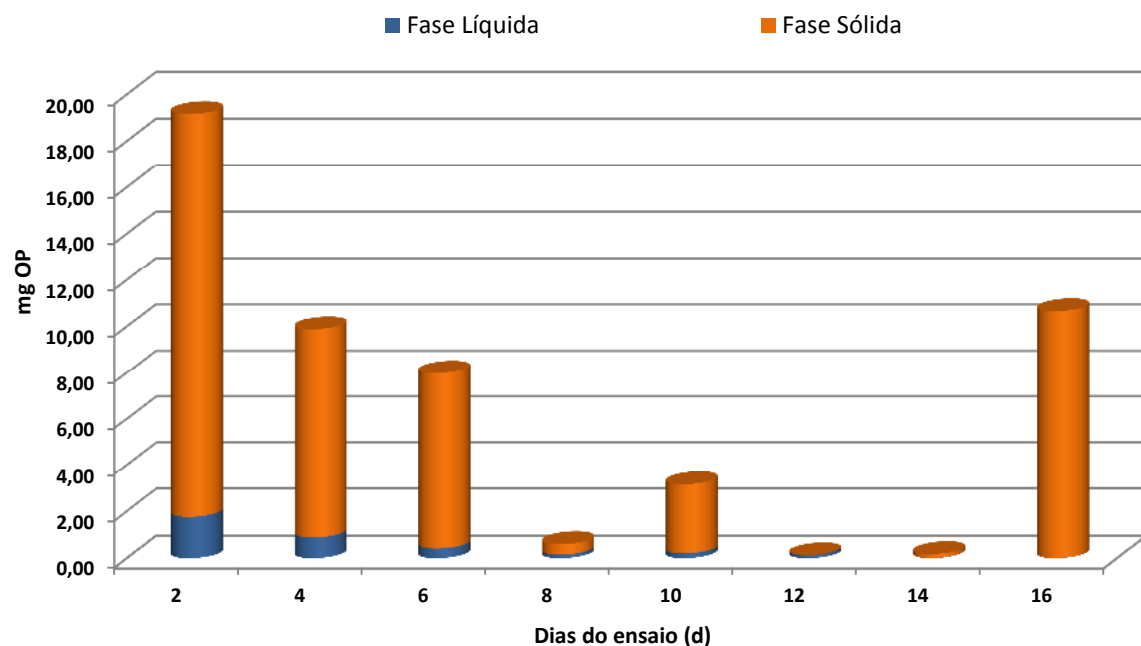


Figura 5.6 – Quantidade total de OP recuperado nas amostras do reactor B (10 mg Op/L), no decorrer do ensaio.

A apreciação global dos resultados obtidos revela que o OP foi parcialmente removido em ambos os reactores, sendo que as concentrações registadas ao longo do ensaio, nas fases líquida e sólida, foram muito reduzidas, face à concentração inicial. Contudo, as amostras finais revelam uma concentração residual, na fase sólida de ambos os reactores.

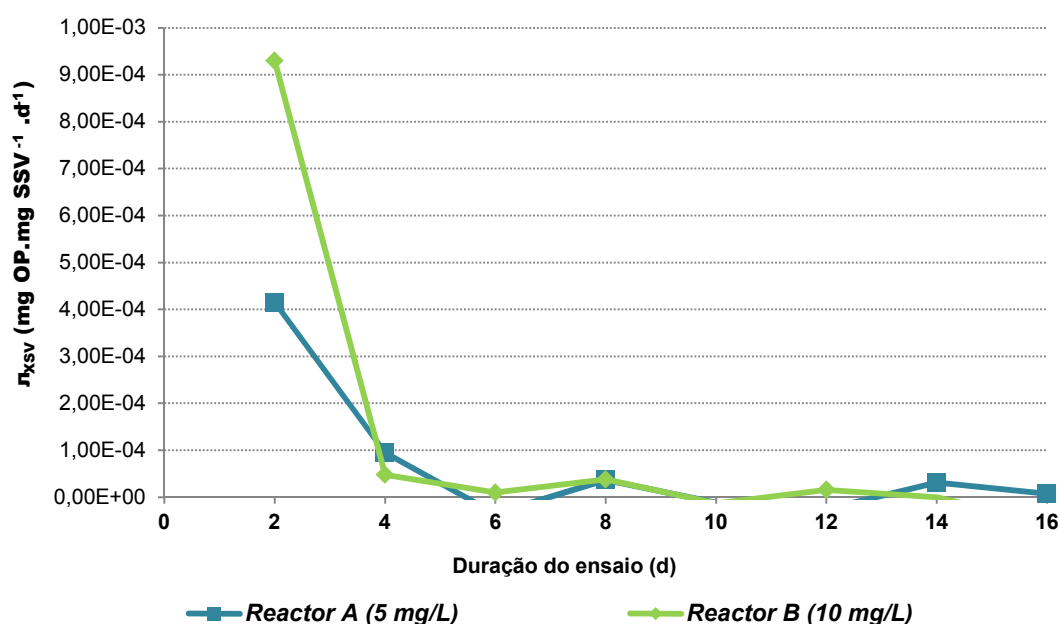


Figura 5.7 – Taxa de remoção específica de OP, nos reactores A (5 mg OP/L) e B (10 mg OP/L).

A conclusão retirada da análise da evolução da η_{xSV} total de OP nos reactores, é similar com as efectuadas anteriormente para as taxas de remoção específicas nas diferentes fases. Seria necessário um maior número de amostras no decorrer do ensaio, e principalmente nas primeiras 48 horas, que representam o período crítico de remoção.

5.2.2 Nonilfenol

Após os dez dias de ensaio, a evolução dos resultados obtidos na fase líquida e na fase sólida, encontra-se esquematizada na Figura 5.8 e Figura 5.9, respectivamente.

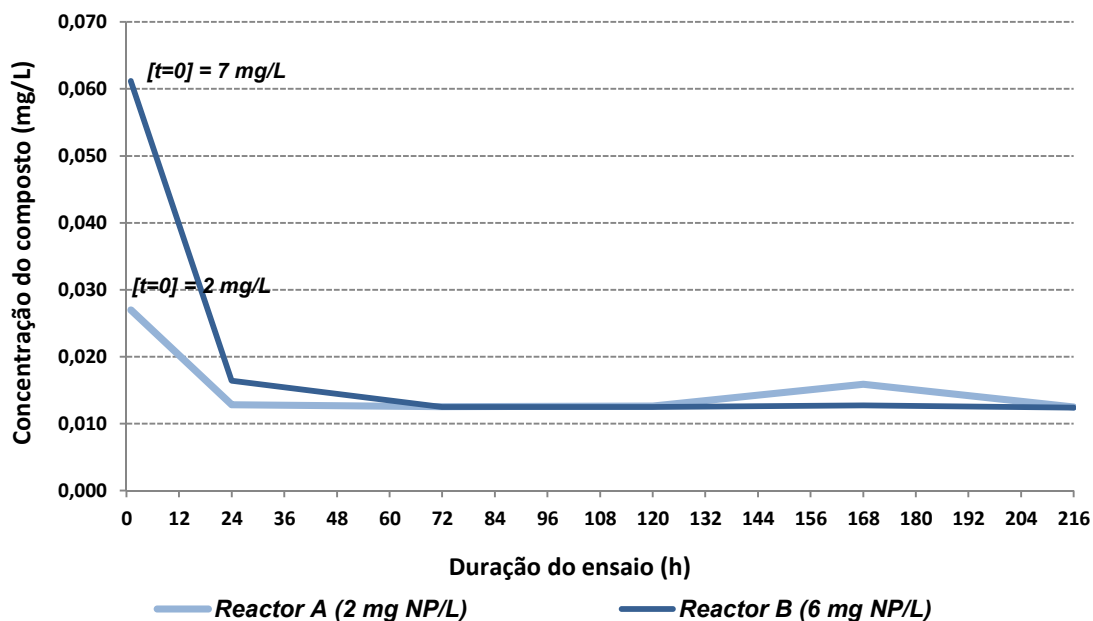


Figura 5.8 – Evolução da concentração de NP na fase líquida das amostras, no decorrer do ensaio, para o reactor A e B.

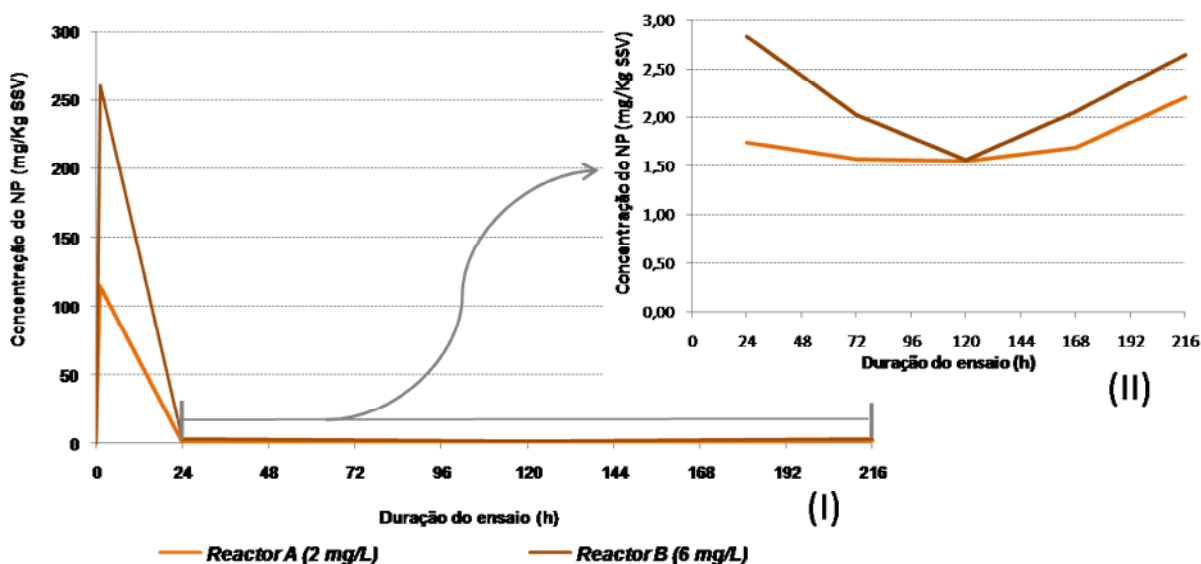


Figura 5.9 – (I) Evolução geral da concentração de NP na fase sólida das amostras; (II) Evolução da concentração de NP no período entre as 24 e as 216 horas do ensaio

Ao analisar o gráfico apresentado na Figura 5.8, comprova-se que ao fim de uma hora, a concentração de NP presente nas fases líquidas dos reatores é significativamente reduzida. De acordo com a característica hidrofóbica do composto, o principal mecanismo de remoção da fase líquida é a transferência de fases, da líquida para a sólida. Assim, é expectável que na primeira

hora do ensaio a concentração de NP seja significativamente reduzida. Contudo, permanece na fase líquida uma concentração residual até o final do ensaio.

Paralelamente ao que foi assumido no ensaio com o OP; também se considerou que não existia concentração inicial de NP na fase sólida dos dois reactores. Assim, a evolução geral dos resultados obtidos segue uma tendência decrescente, após a primeira hora do ensaio, mantendo contudo uma concentração residual no final do ensaio, à semelhança com os resultados obtidos para a fase líquida.

Admitindo que a remoção da fase sólida ocorre através do mecanismo de degradação, a leitura directa dos resultados obtidos sugere que o NP é facilmente degradado no reactor biológico. Contudo, estes resultados serão alvo de uma discussão mais aprofundada no capítulo seguinte.

Para complementar a análise efectuada, foram calculadas as respectivas taxas de remoção específicas para as fases em estudo, em ambos os reactores.

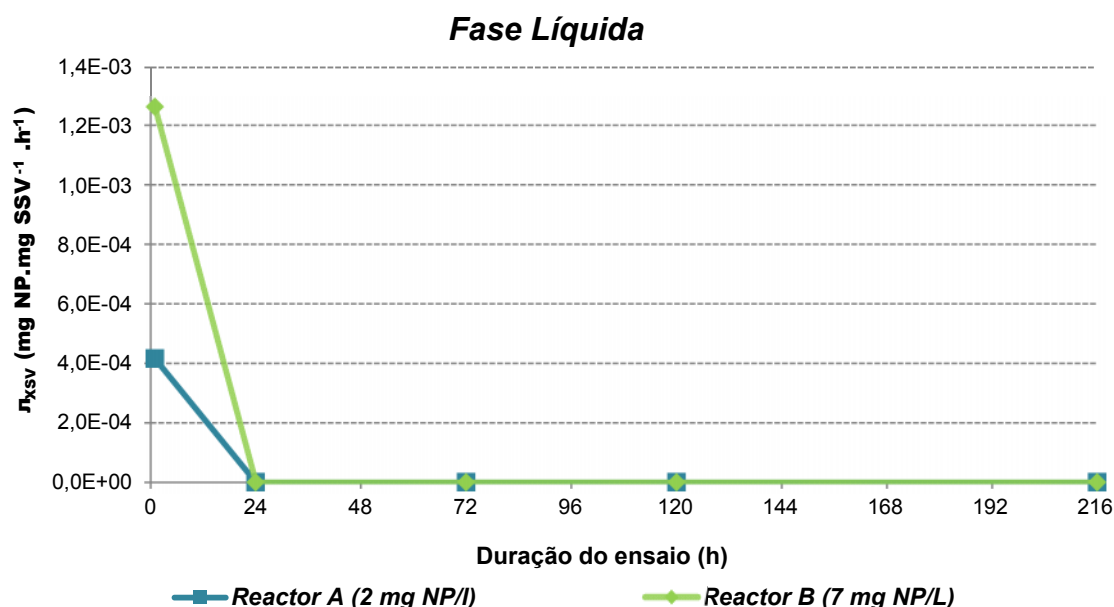


Figura 5.10 – Taxa de remoção específica de NP na fase líquida, nos reactores A e B, no decorrer do ensaio.

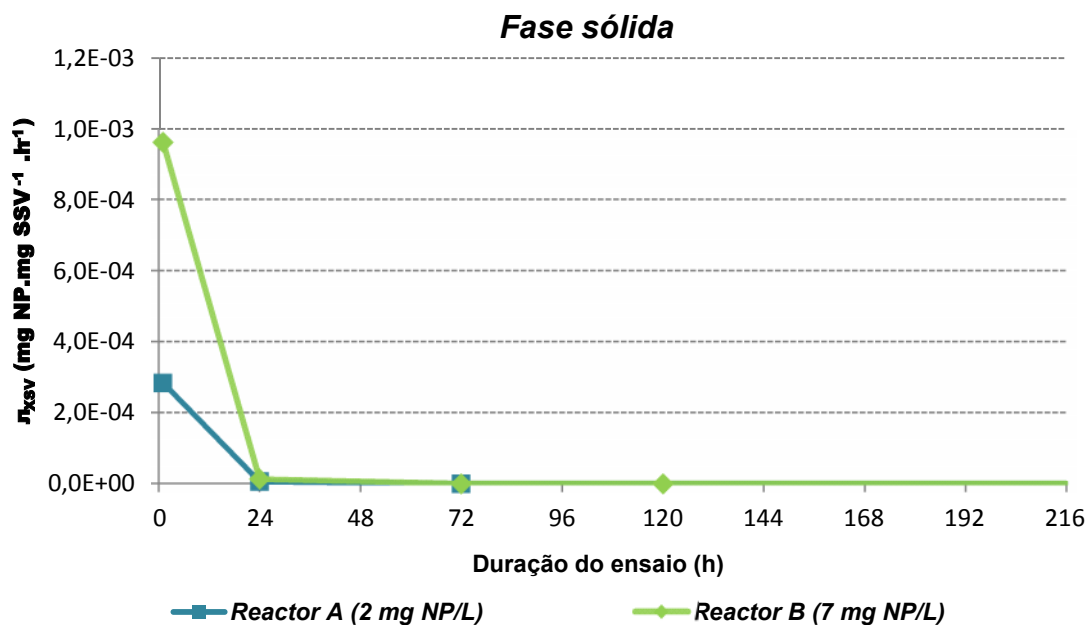


Figura 5.11 – Taxa de remoção específica de NP na fase sólida, nos reactores A e B, no decorrer do ensaio.

Na análise gráfica das Figura 5.10 e Figura 5.11, a remoção de NP parece ser linear nas primeiras 24 horas do ensaio. Contudo, nesse período apenas se dispõe de dois valores de concentração, o que não permite apurar a cinética que ocorre na remoção de NP, nas fases líquidas e sólidas.

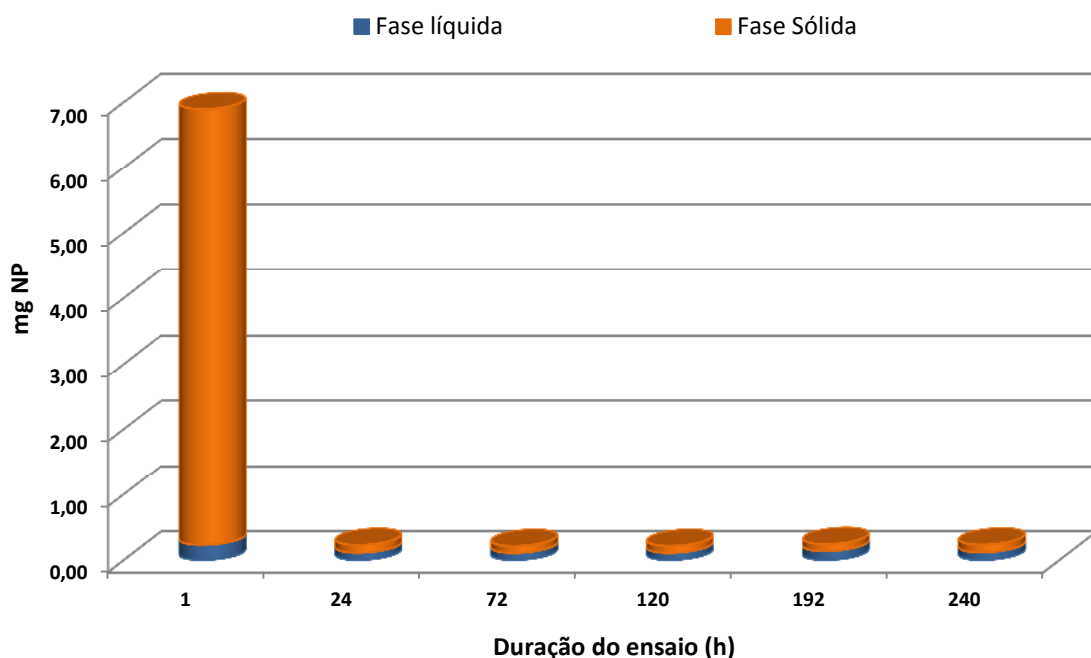


Figura 5.12 – Quantidade de NP recuperado no reactor A (2 mg NP/L), no decorrer do ensaio.

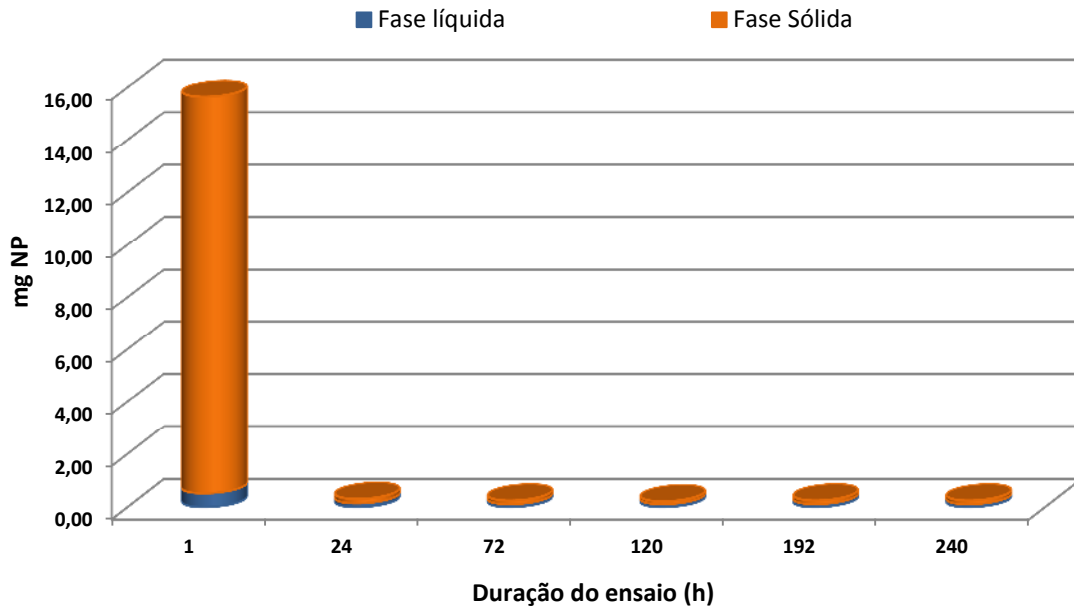


Figura 5.13 – Quantidade de NP recuperado no reactor B (7 mg NP/L), no decorrer do ensaio.

Uma análise comparativa dos resultados obtidos nos dois reactores, permite concluir que o NP é praticamente removido da água residual após 24 horas, independentemente das concentrações iniciais. Porém, após esse período, as concentrações residuais existentes nas duas fases permanecem constantes até o término do ensaio.

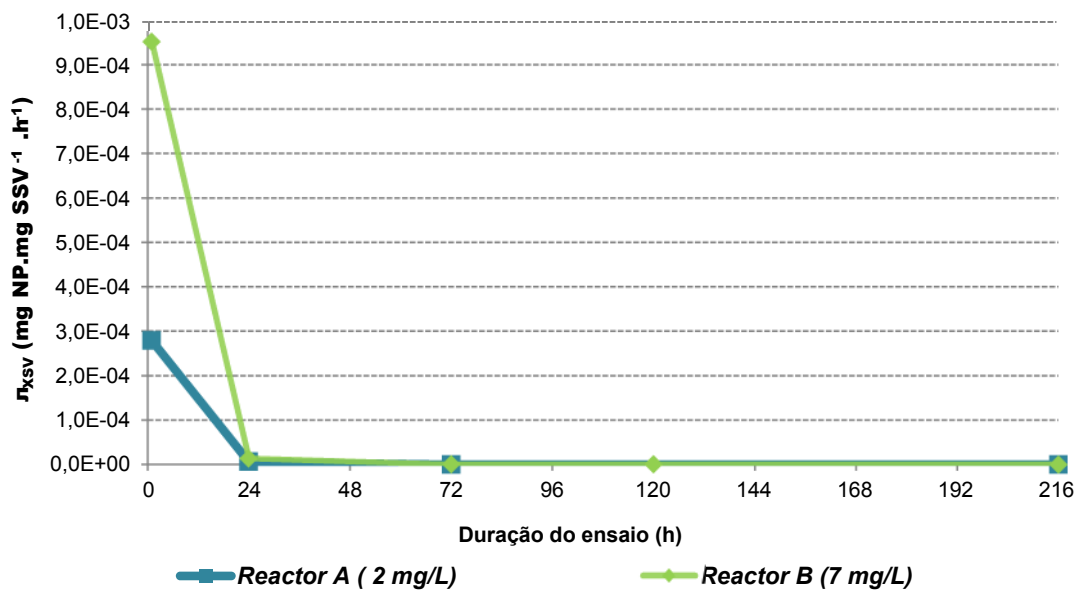


Figura 5.14 – Taxa de remoção específica do NP, no reactor A (2 mg NP /L) e B (7 mg NP/L).

A conclusão retirada da análise da evolução da μ_{xSV} total de NP nos reactores, é similar com as efectuadas anteriormente para as taxas de remoção específica nas diferentes fases. Seria necessário um maior número de amostras nas primeiras 24 horas, que representam o período crítico de remoção.

6 Discussão

Os resultados obtidos e apresentados no capítulo anterior necessitam de uma análise mais profunda, uma vez que não é possível retirar conclusões da sua leitura directa. Pretende-se por isso efectuar uma análise crítica da metodologia empregue e comparar os resultados obtidos com os já apresentados na literatura científica.

6.1 Metodologia Utilizada

A determinação de pequenas concentrações de disruptores endócrinos numa matriz complexa, como a água residual, representa um desafio analítico importante. Actualmente, embora não exista nenhum método standard para a identificação e quantificação de compostos APEO, existem certos passos no processamento de amostras que são comuns em trabalhos desenvolvidos por vários cientistas. As etapas no processamento da amostra envolvem normalmente uma extracção, limpeza, derivatização (em algumas análises), concentração e finalmente a quantificação. Contudo, o número de etapas no processamento é dependente do composto alvo e do tipo de análise em estudo.

Bolz *et al.* (2000), aplicaram com êxito um método de monitorização de compostos fenólicos (como o NP e o OP) em águas residuais, que combinou o recurso a extracção em fase sólida (SPE - solid phase extraction), com a quantificação por GC/MS. Petrovic e Barceló (2001), também conseguiram obter excelentes resultados com recurso às mesmas técnicas, para analisar APEO não só em amostras líquidas, como em amostras sólidas, como por exemplo sedimentos de rios ou lamas de ETAR.

O grande desafio na determinação de APEO em amostras sólidas, consiste no facto de estes serem compostos com elevada afinidade para a matéria particulada. Barceló e a sua equipa, estudaram as etapas necessárias para a extracção destes compostos em amostras de lamas de ETAR, atingindo resultados satisfatórios (Petrovic *et al.*, 2002). Assim sendo, adoptou-se neste estudo o mesmo procedimento, que consiste nas etapas descritas no capítulo da metodologia.

Importa no entanto referir que as concentrações presentes nas amostras dos ensaios realizados, continham concentrações extremamente mais elevadas que as presentes nas amostras analisadas

por Barceló e a sua equipa. Esta diferença pode indicar alterações na percentagem de recuperação do método.

A extracção em SPE foi efectuada com recurso a cartridges OASIS® HLB, que consistem numa coluna de fase reversível, entre o balanço hidrofílico-lipofílico. O pH é uma característica que não limita o uso deste tipo de cartridges, uma vez que apresenta bons resultados em qualquer valor de pH. Assim, o uso deste material foi adequado aos compostos em estudo, devido às suas características físico-químicas, tão aludidas.

Embora o método analítico utilizado neste estudo tenha sido testado satisfatoriamente por outros cientistas, seria importante a optimização do mesmo, para que as conclusões obtidas fossem asseguradas.

A optimização do método passa por um maior controlo de todas as variáveis, como a temperatura, o pH, e da CQO, e por uma percentagem de recuperação semelhante à adquirida por outros autores.

Contudo, devido a limitações temporais e de material laboratorial, como sejam os materiais descartáveis, solventes, e os próprios compostos em estudo, não foi exequível a repetição dos ensaios.

6.2 Análise dos Resultados

No estudo efectuado foram utilizadas a concentração de OP e NP mais elevadas do que aquelas que usualmente se encontra em efluentes de ETAR, particularmente devido ao limite de detecção do GC/MS. Esta diferença de concentração pode levar a uma diferente utilização média por parte dos microrganismos, não reflectindo a biodegradação actual nas estações de tratamento. Contudo, o objectivo deste estudo não consistia na determinação da biodegradabilidade dos compostos, mas sim na partição que ocorre entre as fases líquidas e sólidas, de modo a compreender o destino destes compostos numa estação de tratamento.

Vários casos de estudo identificaram que a degradação de compostos orgânicos sintéticos dependem de vários factores, como a temperatura, a idade de lamas, o tipo de tratamento, a concentração inicial do afluente, a concentração dos compostos e por fim o tempo de retenção hidráulico.

Tal como foi referido anteriormente, o método utilizado não foi sujeito a optimização, pelo que a temperatura não foi um factor controlado. Estudos revelam que entre um largo intervalo de

temperatura, 10 a 20°C, a degradação dos compostos disruptores é favorável, inclusive do NP: Embora não se tenha efectuado um controlo, assume-se que as temperaturas encontravam-se no intervalo óptimo de degradação.

Estudos efectuados por Lester (Langford e Lester, 2003), revelaram que o impacto da idade de lamas na remoção de compostos orgânicos foi demonstrado pela diminuição do tempo de aclimatização necessário, aumentando assim as taxas de remoção.

Reactores biológicos que operem com elevada idade de lamas têm concentrações elevadas de SSV com uma reduzida taxa de desperdício de lamas (Langford e Lester, 2003). Assim que os microrganismos estejam aclimatados com a presença do composto poluente, a sua remoção é dependente da concentração de SSV e da idade de lamas.

Uma idade de lamas elevada também significa a elevada existência de células decadentes e em estado de envelhecimento. Também existem uma elevada concentração de enzimas extracelulares, que em fase de crescimento rápido não ocorreria. Em tratamentos por lamas activadas, uma elevada idade de lamas produz um efluente nitrificado, uma vez que possibilita a conversão do ião amónia em ião nitrato. As bactérias que são responsáveis por esta conversão, são autotróficas e possuem um crescimento mais lento que as heterotróficas. Com uma idade de lamas elevada, estas têm a possibilidade de se desenvolver. Para converter amónia em nitrito, e posteriormente em nitrato, elas utilizam elevadas concentrações de enzimas monoxigenadas. Quando estas são libertadas para o meio aquoso, devido à mistura que ocorre no reactor, estas ficam sem controlo celular podendo oxidar outros compostos, para além da amónia (Langford e Lester, 2003).

Uma vez que as lamas utilizadas neste estudo apresentavam uma idade de lamas relativamente elevada, é possível que as bactérias nitrificantes se tivessem desenvolvido, mesmo antes do início do ensaio. Assim pode-se explicar a rápida degradação dos dois composto logo após o primeiro dia. Fica assim em aberto uma possibilidade de degradação dos alquilfenóis, não por via da biodegradação, mas por influências do meio nitrificante.

Contudo, no ensaio do NP, foram registadas concentrações constantes após o primeiro dia de ensaio, na fase líquida e na fase sólida. Tal facto pode sugerir uma absorção do NP em partículas solúveis e em matéria sólida, não ficando disponível para a degradação.

As concentrações utilizadas no estudo, por serem bastante elevadas, também contribuíram para a rápida aclimação dos microrganismos aos compostos. Embora se possa reconhecer que existissem condições para uma degradação acelerada, nada se pode concluir sobre a influência da concentração na taxa de degradação dos compostos. Como ilustra a Figura 6.1, seriam

necessários mais valores de concentração, para se poder afirmar que a tendência das taxas de remoção é linear (traço contínuo) ou não (traço descontínuo).

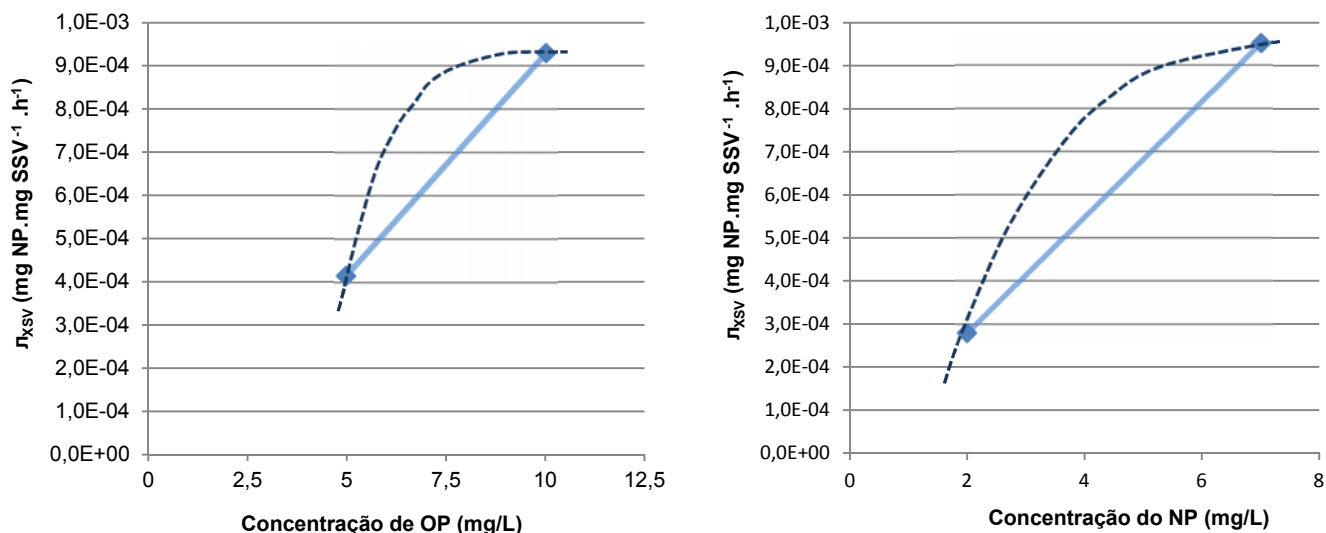


Figura 6.1 – Relação da Taxa máxima de remoção com a concentração dos composto em estudo, OP (à direita) e NP (à esquerda).

Para o conhecimento do balanço associado à remoção de compostos disruptores endócrinos, é necessário garantir que as condições dos reactores em laboratório são semelhantes às ocorridas à escala real. Como foi mencionado, a idade de lamas é um factor determinante, assim como o tempo de retenção hidráulico. Seria interessante constatar a influência da idade de lamas na remoção de AP, para poder avaliar se os resultados obtidos neste ensaio resultaram do poder efectivo de degradação das lamas utilizadas, ou se foi devido apenas à não optimização do método.

Um outro estudo interessante seria avaliar a capacidade recalcitrante do NP, uma vez que foi detectada uma presença constante deste composto ao longo do ensaio. Após determinadas as condições óptimas de degradação, poder-se-ia analisar se o NP consegue ser integralmente degradado.

Por último, o conhecimento da população de microrganismos que possua capacidade de degradação destes compostos, seria um passo determinante para a elaboração de futuras técnicas de remoção efectivas dos compostos disruptores em estações de tratamento de águas residuais, com recurso à biomassa.

7 Conclusões

O tratamento de águas residuais e industriais tem actualmente um novo desafio. A actividade estrogénica dos efluentes finais, causada pelo facto dos compostos disruptores endócrinos passarem através do sistema de tratamento, tem revelado consequências cada vez mais graves na saúde pública e na subsistência e na sustentabilidade dos ecossistemas. De entre os vários grupos de químicos, identificados como disruptores endócrinos, o que mais contribui para a estrogénica do efluente é o grupo dos tensioactivos, principalmente os alquilfenóis.

Os alquilfenóis etoxilados, são compostos com um uso muito diversificado, principalmente em fórmulas de detergentes, quer para uso industrial, comercial ou doméstico. Os APEO são compostos estáveis e com baixa capacidade estrogénica. No decorrer do tratamento biológico ocorre uma degradação incompleta dos APEO, de onde resultam metabolitos como o nonilfenol e o octilfenol. Estes dois compostos já foram caracterizados como disruptores endócrinos, e são dos compostos mais identificados em efluentes com actividade estrogénica.

Foi por isso, objectivo deste estudo contribuir para a avaliação do balanço destes compostos (nonilfenol e octilfenol) no decorrer do tratamento biológico, uma vez que é importante conhecer o destino dos compostos para melhor elaborar técnicas de tratamento eficazes.

Uma leitura directa dos resultados obtidos sugere que os dois compostos são degradados facilmente, após 48 horas. As análises realizadas para as fases líquidas e sólidas, demonstram que no decorrer do ensaio os compostos têm uma tendência para a adsorção à fase sólida, o que não é impeditivo para a degradação dos mesmos. Contudo, os resultados não devem ser encarados a título definitivo, sendo necessário efectuar estudos futuros para alcançar os objectivos pretendidos.

Uma das principais conclusões deste estudo é que a metodologia existente deve ser melhorada de forma a se poder ter percentagens de recuperação elevadas e de modo a serem obtidos valores fiáveis.

Este estudo também permite concluir sobre os requisitos necessários para que estudos futuros possam obter resultados esclarecedores. Deverão ser criadas condições laboratoriais próximas das geralmente encontradas em escala real. São vários os factores que influenciam a degradação dos compostos disruptores em geral, principalmente o tempo de retenção hidráulico, a idade de lamas, a concentração inicial do composto e o tempo de aclimatização.

Valores de tempo de retenção hidráulico e de idade de lamas elevados, diminuem o tempo necessário de aclimatização dos microrganismos aos compostos disruptores, aumentando assim a capacidade de degradação da biomassa. Elevadas concentrações do composto também diminuem o tempo de aclimatização. É portanto necessário controlar estes factores de modo a realizar ensaios que permitam compreender o verdadeiro balanço do nonilfenol e do octilfenol num reactor biológico.

Também seria interessante acompanhar em escala laboratorial o processo de degradação de APEO, de modo a compreender o seu comportamento e o destino dos seus metabolitos no decorrer do tratamento biológico. Outro estudo de interesse seria avaliar a degradação destes compostos num reactor anaeróbio, uma vez que existem registos que sugerem que estes compostos são recalcitrantes, permanecendo nas lamas desidratadas em concentrações superiores. Tal facto requer uma especial atenção pelo facto de algumas lamas terem como destino a valorização agrícola.

Este estudo deve ser encarado como um primeiro passo para a compreensão global do comportamento e destino do NP e do OP num reactor biológico. A sua compreensão será necessária para poder explorar tratamentos terciários eficazes para a remoção de AP em geral.

8 Bibliografia

- Ahel, M., Schaffner, C., & Giger, W. (1996). BEHAVIOUR OF ALKYLPHENOL POLYETHOXYLATE SURFACTANTS IN THE AQUATIC ENVIRONMENT--III.OCCURRENCE AND ELIMINATION OF THEIR PERSISTENT METABOLITES DURING INFILTRATION OF RIVER WATER TO GROUNDWATER. *Wat. Res.* , 30, 37-46.
- Birkett, J. W. (2003). Scope of the Problem. In J. W. Birkett, & J. N. Lester, *Endocrine Disrupters in Wastewater and Sludge Treatment Processes* (pp. 1-25). Lewis Publishers/IWA Publishing.
- Birkett, J. W. (2003). Sources os Endocrine Disrupters. In J. W. Birkett, & J. N. Lester, *Endocrine Disrupters in Wastewater and Sludge Treatment Processes* (pp. 35-57). Lewis Publishers/IWA Publishing.
- Blum, D. J., & Speece, R. E. (1990). Determining chemical toxicity to aquatic species. *Environ. Sci. Technol.* , 24, 284.
- Bolz, U., Korner, W., & Hagenmaier, H. (2000). Development and validation of a GC/MS method for determination of phenolic xenoestrogens in aquatic samples. *Chemosphere* , 40, 929-935.
- Boockfor, F. R., & Blake, C. A. (1997). Chronic administration of 4-tert-octylphenol to adult male rats causes shrinkage of the testes and male accessory sex organs, disrupts spermatogenesis, and increases the incidence of sperm deformities. *Biol. Reprod.* , 57, 267-277.
- Chang, B. V., Chiang, F., & Yuan, S. (2005). Anaerobic degradation of nonylphenol in sludge. *Chemosphere* , 59, 1415-1420.
- Chang, B. V., Chiang, F., & Yuan, S. Y. (2005). Biodegradation of nonylphenol in sewage sludge. *Chemosphere* , 60, 1652-1659.
- Desbrow, C., Routledge, E., Brighty, G. C., Sumpter, J. P., & Waldock, M. (1998). Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 1. Chemical fractionation and in vitro biological screening. *Environmental Science and Technology* , 32, 1549.
- European Commission. (1996).
- Fenner-Crisp, P. A., Maciorowski, A. F., & Timm, G. E. (2000). The Endocrine Disruptor Screening Program Developed by the U.S. Environmental Protection Agency. *Ecotoxicology* , 9, 85-91.
- Gomes, R., & Lester, J. N. (2003). Endocrine Disrupters in Receiving Waters. In J. W. Birkett, & J. N. Lester, *Endocrine Disrupters in Wastewater and Sludge Treatment Processes* (pp. 177-217). Lewis Publishers/IWA Publishing.
- Jonhson, A. C., & Sumpter, J. P. (2001). Removal of Endocrine-Disrupting Chemicals in Activated Sludge Treatment Works. *Environmental Science and Technology* , 35, 4694-4703.
- Jonhson, A. C., Belfroid, A., & Di Garcia, A. (2000). Estimating steroid oestrogen inputs into activated sludge treatment works and observations on their removal from the effluent. *Sci. Total Environ.* , 256, 163.

- Langford, K. H., Scrimshaw, M. D., Birkett, J. W., & Lester, J. N. (2005). The partitioning of alkylphenolic surfactants and polybrominated diphenyl ether flame retardants in activated sludge batch tests. *Chemosphere* , 61, 1221-1230.
- Langford, K., & Lester, J. N. (2003). Fate and Behavior of Endocrine Disrupters in Wastewater Treatment Processes. In J. N. Lester, & J. W. Birkett, *Endocrine Disrupters in Wastewater and Sludge Treatment Processes* (pp. 103-143). Lewis Publishers/IWA Publishing.
- Lee, J., Lee, B. C., Ra, J. S., Cho, J., Kim, I., Chang, N. I., et al. (2008). Comparison of the removal efficiency of endocrine disrupting compounds in pilot scale sewage treatment processes. *Chemosphere* , 71, 1582-1592.
- Maurício, R., Diniz, M., Petrovic, M., Amaral, L., Peres, I., Barceló, D., et al. (2006). A Characterization of Selected Endocrine Disruptor Compounds in a Portuguese Wastewater Treatment Plant. *Environmental Monitoring and Assessment* , 118, 75-87.
- Meakins, N. C., Bubb, J. M., & Lester, J. N. (1994). The fate and behaviour of organic micro pollutants during wastewater treatment. *International Journal of Environment* , 4, 27.
- Metcalf, & Eddy. (2003). *Wastewater Engineering, Treatment and Reuse* (4th Edition ed.). New York: McGraw-Hill.
- Miksicek, R. J. (1994). Interaction of naturally occurring nonsteroidal estrogens with expressed recombinant human estrogen receptor. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* , 49, 153.
- Okutman, D. S., & Orhon, D. (2001). Hydrolysis of settleable substrate in domestic sewage. *Biotechnol. Lett.* , 23, 1907.
- Oliveira, J. S. (1983). *Operações e Processos Fundamentais em Engenharia Sanitária, vol III-Fundamentos de Depuração Biológica* (1ª edição ed.). Lisboa: Universidade Nova de Lisboa-Faculdade de Ciências e Tecnologia.
- Petrovic, M., & Barceló, D. (2001). Review of Advanced Sample Preparation Methods for the Determination of Alkylphenol Ethoxylates and Their Degradation Products in Solid Environmental. *Analysis, toxicity and biodegradation of organic pollutants in groundwater from contaminated land, landfills and sediments*. Barcelona.
- Petrovic, M., Eljarrat, E., Alda, M. J., & Barceló, D. (2001). Analysis and environmental levels of endocrine-disrupting compounds in freshwater sediments. *Analytical Chemistry* , 20, 637-648.
- Petrovic, M., Eljarrat, E., López de Alda, M. J., & Barceló, D. (2002). Recent advances in the mass spectrometric analysis related to endocrine disrupting compounds in aquatic environmental samples. *Journal of Chromatography A* .
- Routledge, E. J., & Sumpter, J. P. (1997). Structural features of alkylphenolic chemicals associated with estrogenic activity. *Journal Biol. Chem.* , 272, 3280.
- Scrimshaw, M. D., & Lester, J. N. (2003). Fate and Behavior os Endocrine Disrupters in Sludge Treatment and Disposal. In J. W. Birkett, & J. N. Lester, *Endocrine Disrupters in Wastewater and Sludge Treatment Processes* (pp. 145-175). Lewis Publishers/IWA Publishing.

- Soares, A., Guieysse, B., Jefferson, B., Cartmell, E., & Lester, J. N. (2008). Nonylphenol in the Environment: A critical review on occurrence, fate, toxicity and treatment in wastewaters. *Environment International* , doi:10.1016/j.envint.2008.01.004.
- Spellman, E. R. (1999). *Spellman's Standard Handbook for Wastewater Operators* (Vol. 1). Lancaster, Pennsylvania: Technomic Publishing.
- Spengler, P., Korner, W., & Metzger, J. (2001). Substances with estrogenic activity in effluents of sewage treatment plants in southwestern Germany. 1. Chemical Analysis. *Environmental Chemistry* , 20, 2133-2141.
- Tabira, Y., Nakai, M., Asai, D., Yakabe, Y., Tahara, Y., Shinmyozu, T., et al. (1999). Structural requirements of para-alkylphenols to bind to estrogen receptor. *Eur. J. Biochem* , 262, 240.
- U. S. Environmental Protection Agency. (1997). *Special Report on Environmental Endocrine Disruption: An Effects Assessment and Analysis*. Washinton D. C.
- Voulvoulis, N., & Scrimshaw, M. D. (2003). Methods for the Determination of Endocrine Disrupters. In J. W. Birkett, & J. N. Lester, *Endocrine Disrupters in Wastewater and Sludge Treatment Processes* (pp. 59-101). Lewis Publishers/IWA Publishing.
- White, R., Jobling, S., Hoare, S., Sumpter, J., & Parker, M. (1994). Environmentally persistent alkylphenolic compounds are estrogenic. *Endocrinology* , 135, 178-182.
- Yuan, S. Y., Yu, C. H., & Chang, B. V. (2004). Biodegradation of nonylphenol in river sediment. *Environmental Pollution* , 127, 425-430.
- Zava, D. T., & Duwe, G. (1997). Estrogenic and antiproliferative properties and other flavonoids in human breast cancer cells in vivo. *Nutr. Cancer* , 27, 31.

Anexos

ANEXO I

Ensaio com Octilfenol

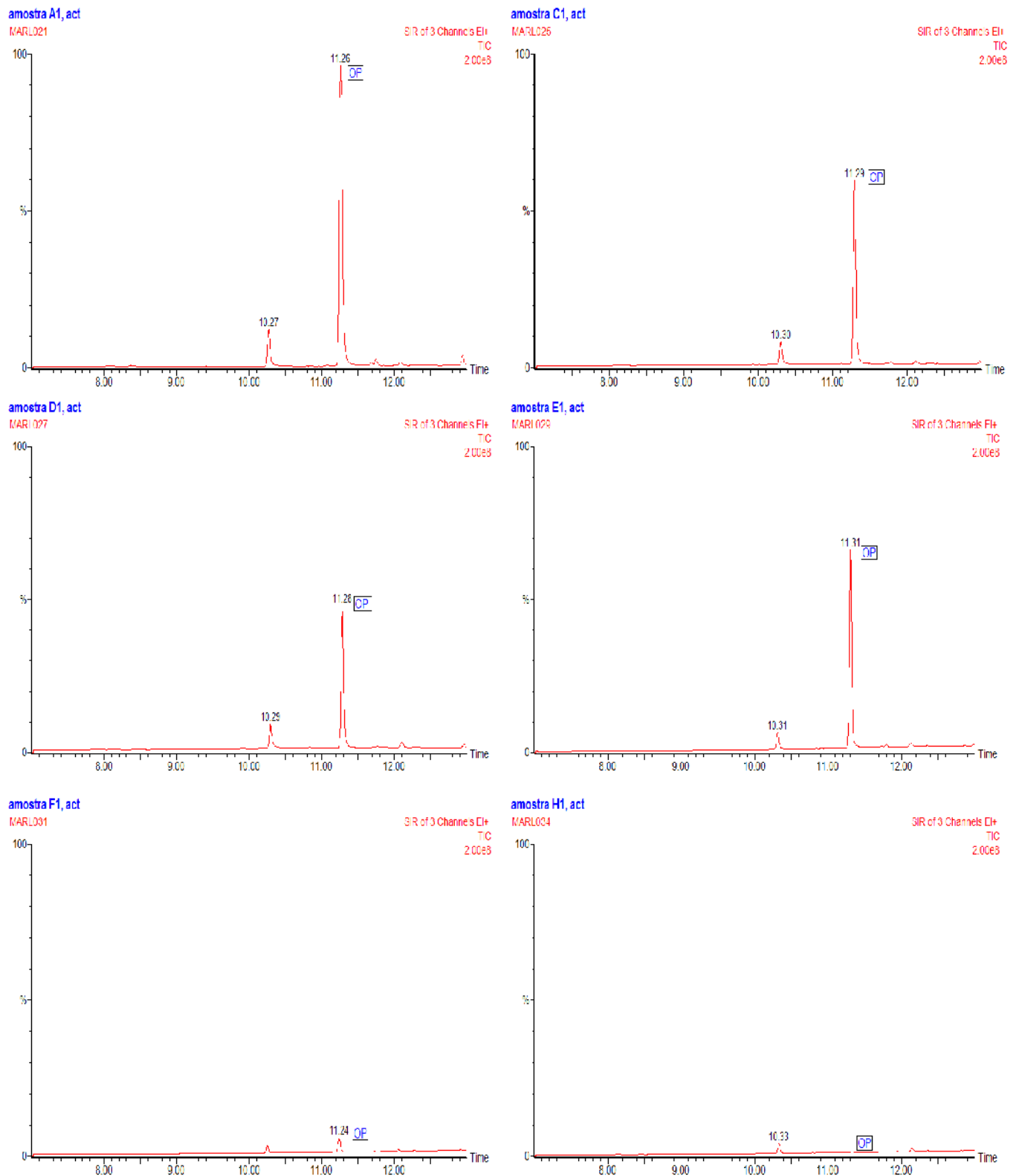


FIGURA I.1 – Cromatogramas resultantes das amostras da fase líquida do reactor A (5 mg OP/L), apresentados da primeira para a última amostra.

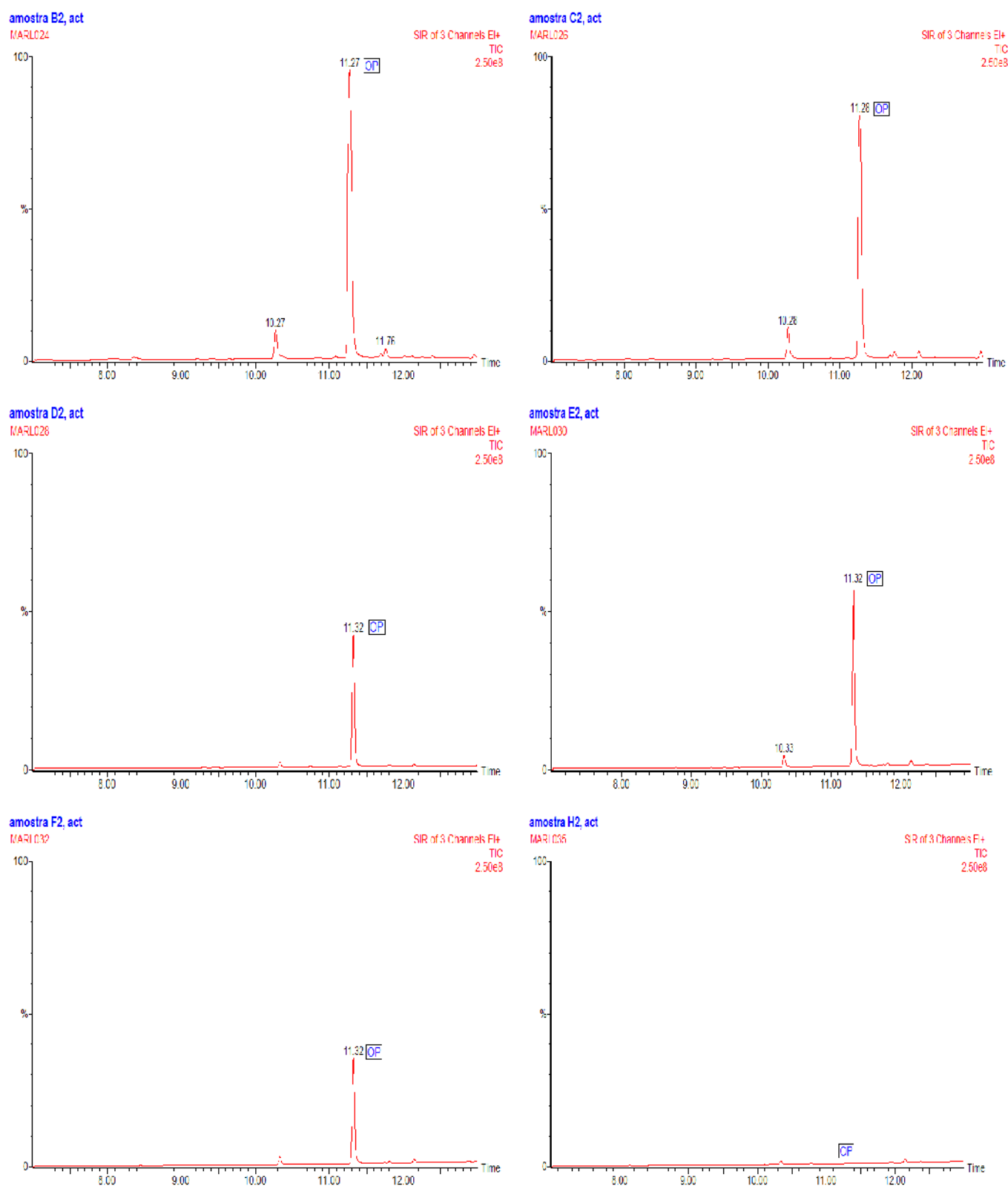


FIGURA I.2 – Cromatogramas resultantes das amostras da fase líquida do reactor B (10 mg OP/L), apresentados da primeira para a última amostra.

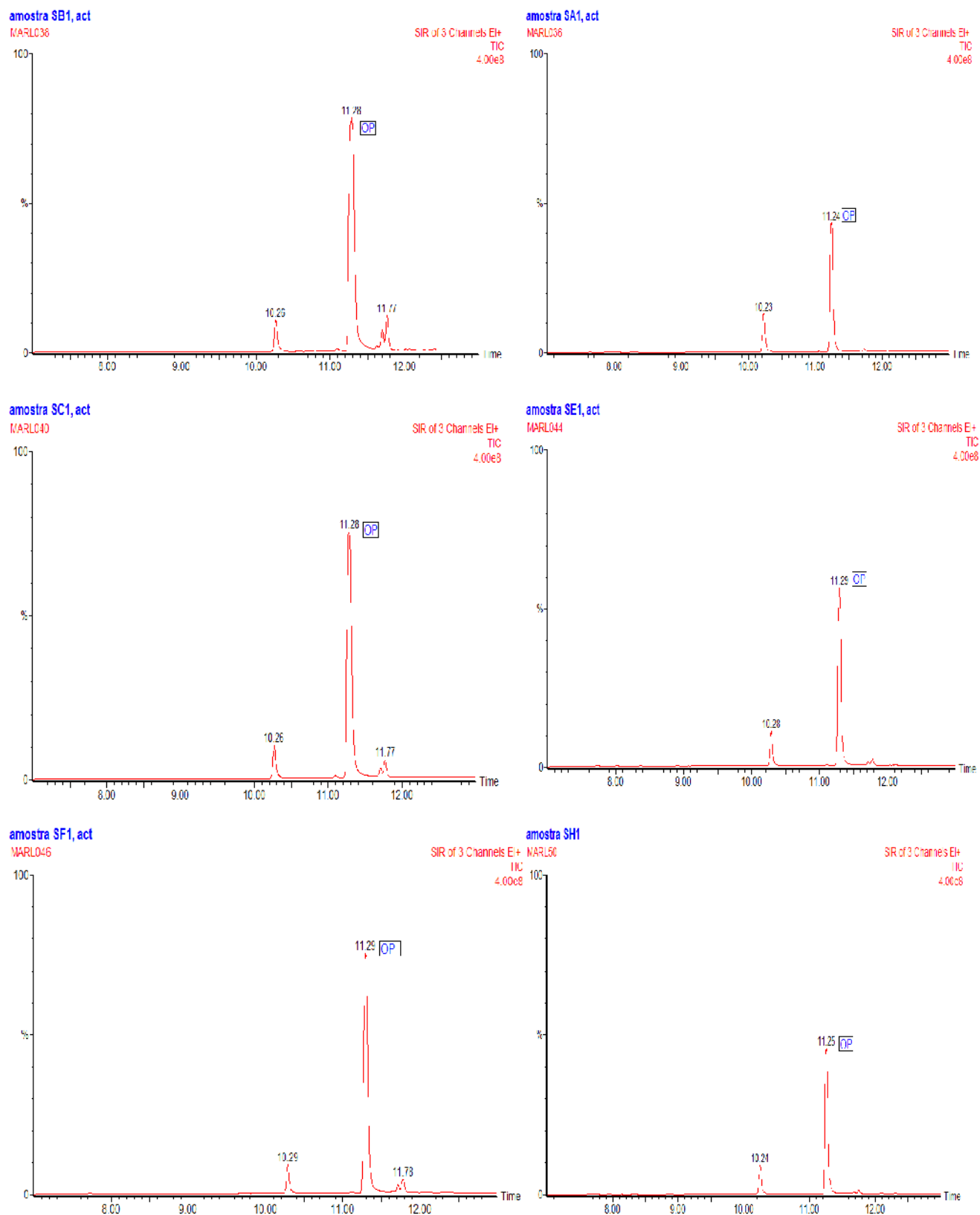


FIGURA I.3 – Cromatogramas resultantes das amostras não diluídas da fase sólida do reactor A (5 mg OP/L), apresentados da primeira para a última amostra.

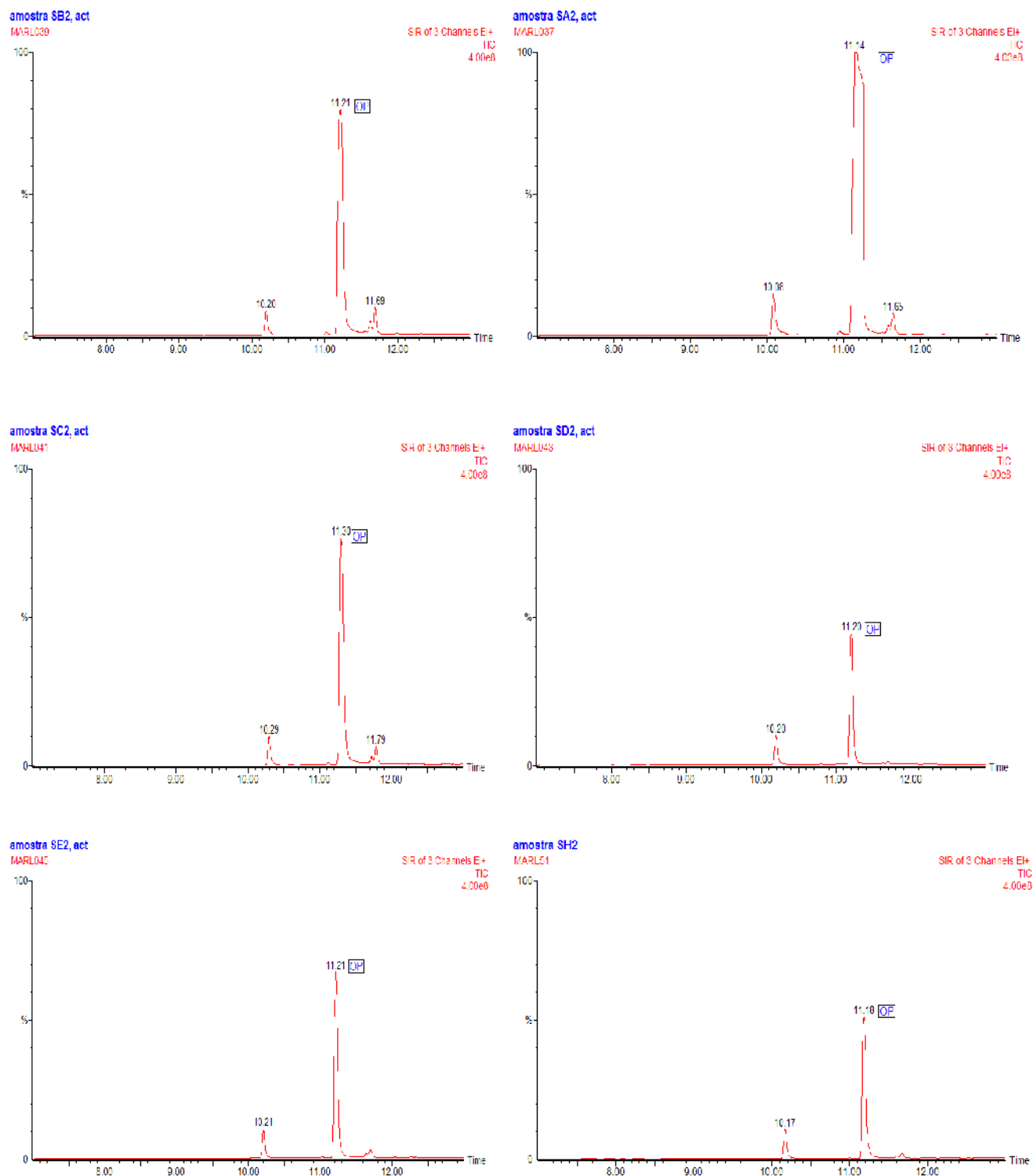


FIGURA I.4 – Cromatogramas resultantes das amostras não diluídas da fase sólida do reactor B (10 mg OP/L), apresentados da primeira para a última amostra.

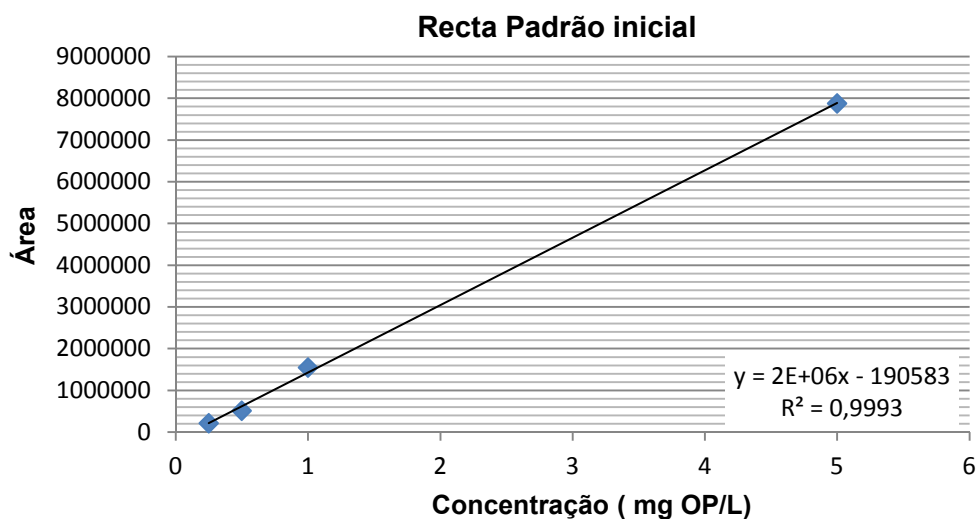


FIGURA I.5 – Análise gráfica da recta obtida com as amostras padrão do OP, no dia 23 de Julho de 2008.

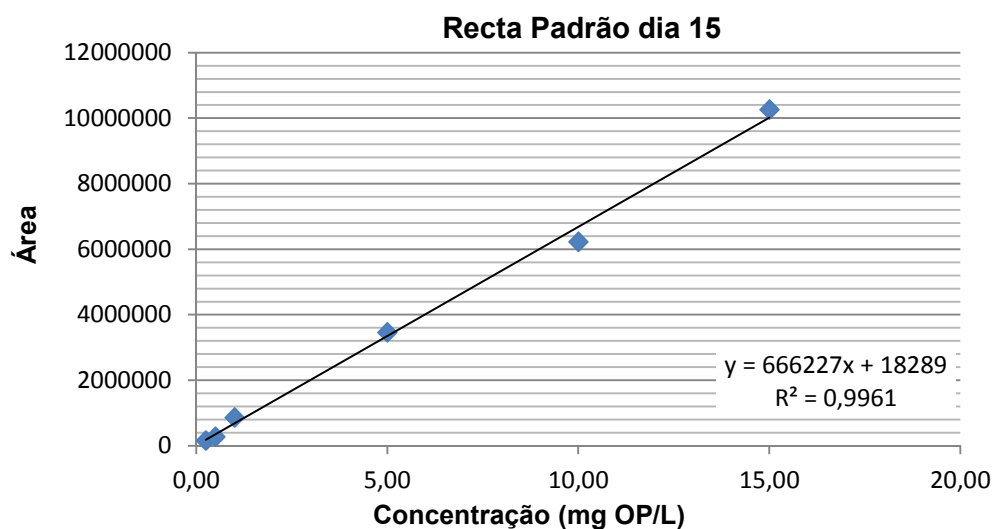


FIGURA I.6 – Análise gráfica da recta obtida com as amostras padrão do OP, no dia 15 de Outubro de 2007.

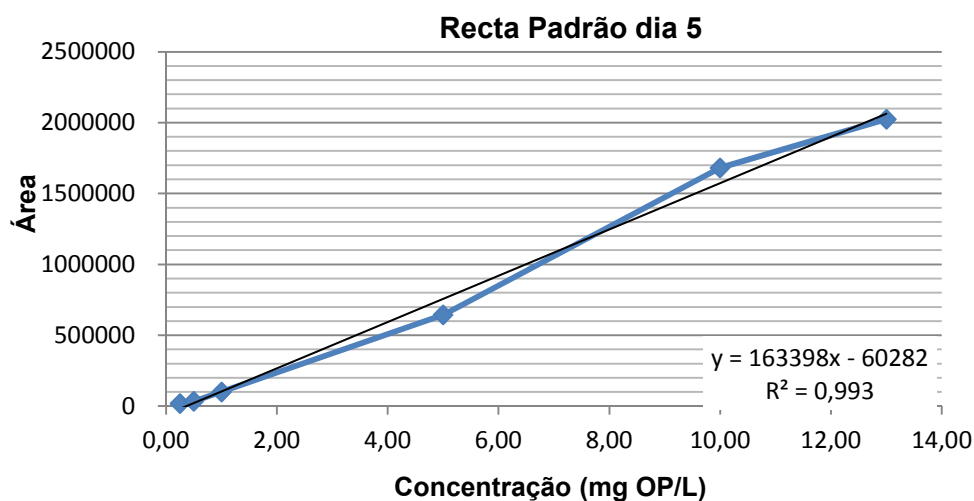


FIGURA I.7– Análise gráfica da recta obtida com as amostras padrão do OP, no dia 5 de Novembro de 2007.

Quadro I-1 – Resultados obtidos para o reactor A (5 mg OP/L).

Data	Fase líquida				Fase sólida			
	Amostra	Área obtida	Concentração (mg OP/L)	Concentração Total de OP no reactor (mg OP/L)⁽³⁾	Amostra	Área obtida	Concentração (mg OP/L)	Concentração Total de OP no reactor (mg OP/Kg SSV)⁽³⁾
10-Mai	B	-	0,000	0,04	SB	468761 ⁽²⁾	323,776	190,27
12-Mai	A	10888959	6,855	0,020	SA	9394356	8,321	4,890
14-Mai	C	5028889	3,229	0,009	SC	1011405 ⁽²⁾	131,175	77,085
16-Mai	D	4007713	2,597	0,007	SD	9268064	8,202	4,820
18-Mai	E	5152829	3,306	0,009	SE	8026123 ⁽¹⁾	48,079	28,253
20-Mai	F	386382	0,357	0,001	SF	1072377 ⁽²⁾	138,638	81,470
22-Mai	G	-	0,118	0,000	SG	2185456 ⁽¹⁾	32,529	19,116
24-Mai	H	15066	0,127	0,000	SH	9972156	8,868	5,211

Nota:

- (1) –Valores obtidos através da recta padrão de dia 15 de Outubro
- (2) Valores obtidos através da recta padrão de 5 de Novembro
- (3) Concentração total tendo em conta a percentagem de recuperação do método (70%).

Quadro I-2 – Resultados obtidos para o reactor B (10 mg OP/L).

Data	Fase líquida				Fase sólida			
	Amostra	Área obtida	Concentração (mg OP/L)	Concentração Total de OP no reactor (mg OP/L) ⁽³⁾	Amostra	Área obtida	Concentração (mg OP/L)	Concentração Total de OP no reactor (mg OP/Kg SSV) ⁽³⁾
10-Mai	B	14469680	30,839	0,09	B	1184110 ⁽²⁾	304,628	125,31
12-Mai	A	-	15,419	0,044	A	583336 ⁽²⁾	157,558	64,812
14-Mai	C	11523422	7,247	0,021	C	1022155 ⁽²⁾	132,491	54,501
16-Mai	D	3994572	2,589	0,007	D	3994572	7,973	3,280
18-Mai	E	5580811	3,571	0,010	E	8601855 ⁽¹⁾	51,535	21,199
20-Mai	F	3417922	2,232	0,006	F	3417922	0,000	0,000
22-Mai	G	51388	0,150	0,000	G	51388	3,029	1,246
24-Mai	H	6639	0,122	0,000	H	6639	186,510	76,721

Nota:

- (1) –Valores obtidos através da recta padrão de dia 15 de Outubro
- (2) Valores obtidos através da recta padrão de 5 de Novembro
- (3) Concentração total tendo em conta a percentagem de recuperação do método (70%).

Quadro I-3– Tratamento dos resultados obtidos para o reactor A (5 mg OP/L).

Dias do ensaio	Fase líq. Tot de OP real (mg/L)	Fase sol. Tot de OP real (mg OP/ kg SSV)	Fase Líquida (mg)	Fase Sólida (mg)	TOTAL (mg OP)	Concentração no reactor (mg OP/L)	Tax.remocão específica (mg OP/ mg SSV.d)	Conc. Presente na F. Líq (mg OP/L)	Conc. Presente na F. Sol (mg OP/L)	Tax. remoção esp. F. Líq (mg OP/ mg SSV.d)	Tax. remoção esp. F. Sol (mg OP/ mg SSV.d)
2	0,0392	190	0,78	18,50	19,28	0,96	4,15E-04	0,0392	0,9251	5,1E-04	4,2E-04
4	0,0196	5	0,39	0,48	0,87	0,04	9,47E-05	0,0196	0,0238	2,0E-06	9,3E-05
6	0,0092	77	0,18	7,50	7,68	0,38	-3,50E-05	0,0092	0,3748	1,1E-06	-3,6E-05
8	0,0074	5	0,15	0,47	0,62	0,03	3,63E-05	0,0074	0,0234	1,9E-07	3,6E-05
10	0,0094	28	0,19	2,75	2,94	0,15	-1,19E-05	0,0094	0,1374	-2,1E-07	-1,2E-05
12	0,0010	81	0,02	7,92	7,94	0,40	-2,57E-05	0,0010	0,3961	8,7E-07	-2,7E-05
14	0,0003	19	0,01	1,86	1,87	0,09	3,12E-05	0,0003	0,0929	7,0E-08	3,1E-05
16	0,0004	5	0,01	0,51	0,51	0,03	6,95E-06	0,0004	0,0253	-2,74E-09	7,0E-06

Quadro I-4– Tratamento dos resultados obtidos para o reactor B (10 mg OP/L).

Dias do ensaio	Fase líq. Tot de OP real (mg/L)	Fase sol. Tot de OP real (mg OP/ kg SSV)	Fase Líquida (mg)	Fase Sólida (mg)	TOTAL (mg OP)	Concentração no reactor (mg OP/L)	Tax.remocão específica (mg OP/ mg SSV.d)	Conc. Presente na F. Líq (mg OP/L)	Conc. Presente na F. Sol (mg OP/L)	Tax. remoção esp. F. Líq (mg OP/ mg SSV.d)	Tax. remoção esp. F. Sol (mg OP/ mg SSV.d)
2	0,088	179	1,76	17,41	19,17	0,96	9,30E-04	0,0881	0,8704	2,5E-04	9,4E-04
4	0,044	93	0,88	9,00	9,88	0,49	4,77E-05	0,0441	0,4502	1,1E-06	4,3E-05
6	0,021	78	0,41	7,57	7,99	0,40	9,77E-06	0,0207	0,3785	5,8E-07	7,4E-06
8	0,007	5	0,15	0,46	0,60	0,03	3,80E-05	0,0074	0,0228	3,3E-07	3,7E-05
10	0,010	30	0,20	2,94	3,15	0,16	-1,31E-05	0,0102	0,1472	-7,0E-08	-1,3E-05
12	0,006	0	0,13	0,00	0,13	0,01	1,55E-05	0,0064	0,0000	9,6E-08	1,5E-05
14	0,000	2	0,01	0,17	0,18	0,01	-2,78E-07	0,0004	0,0087	1,5E-07	-8,9E-07
16	0,000	110	0,01	10,66	10,66	0,53	-5,39E-05	0,0003	0,5329	2,0E-09	-5,4E-05

ANEXO II

Ensaio com o Nonilfenol

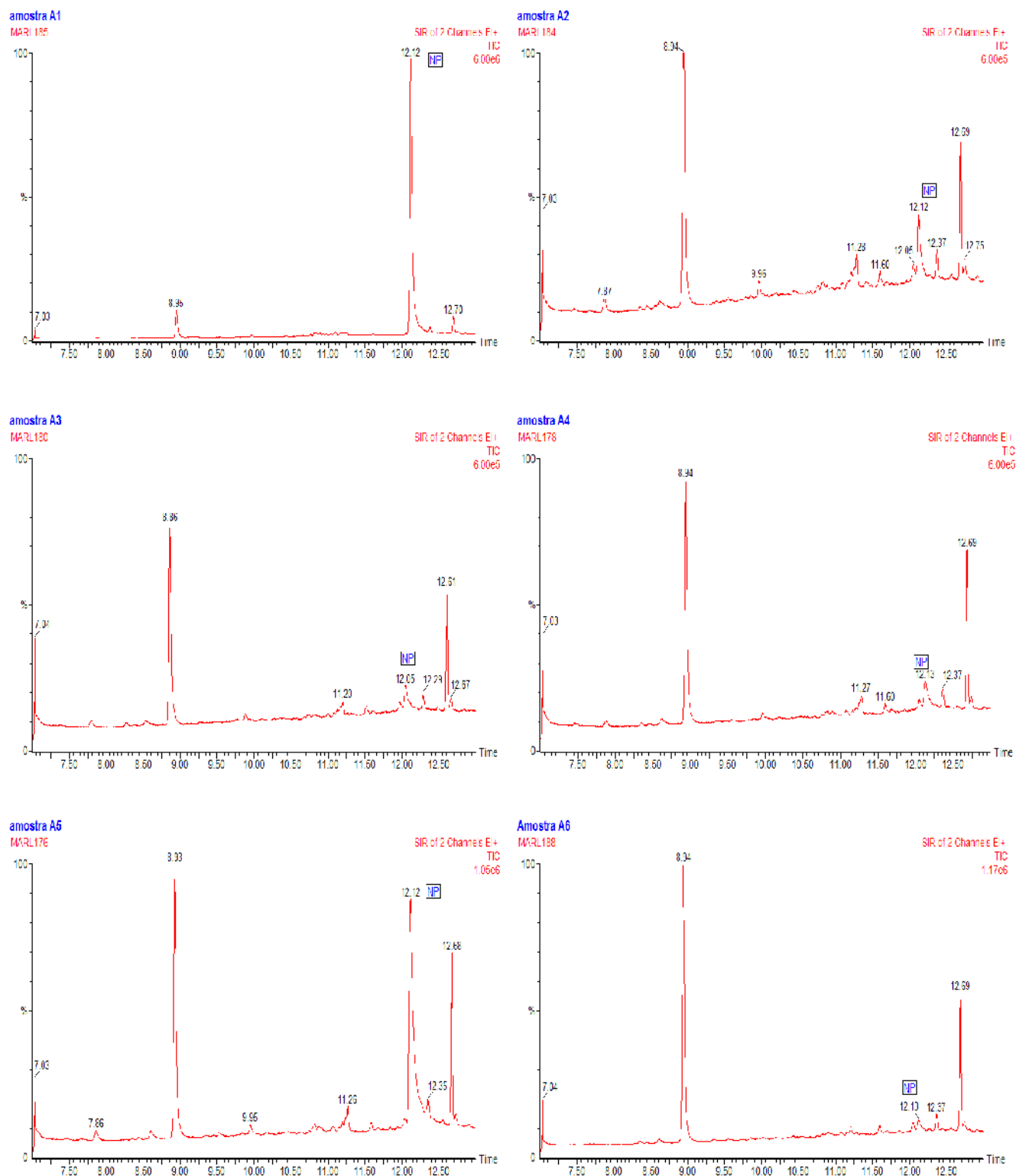


FIGURA II.1– Cromatogramas resultantes das amostras da fase líquida do reactor A (2 mg NP/L), apresentados, da primeira para a última amostra.

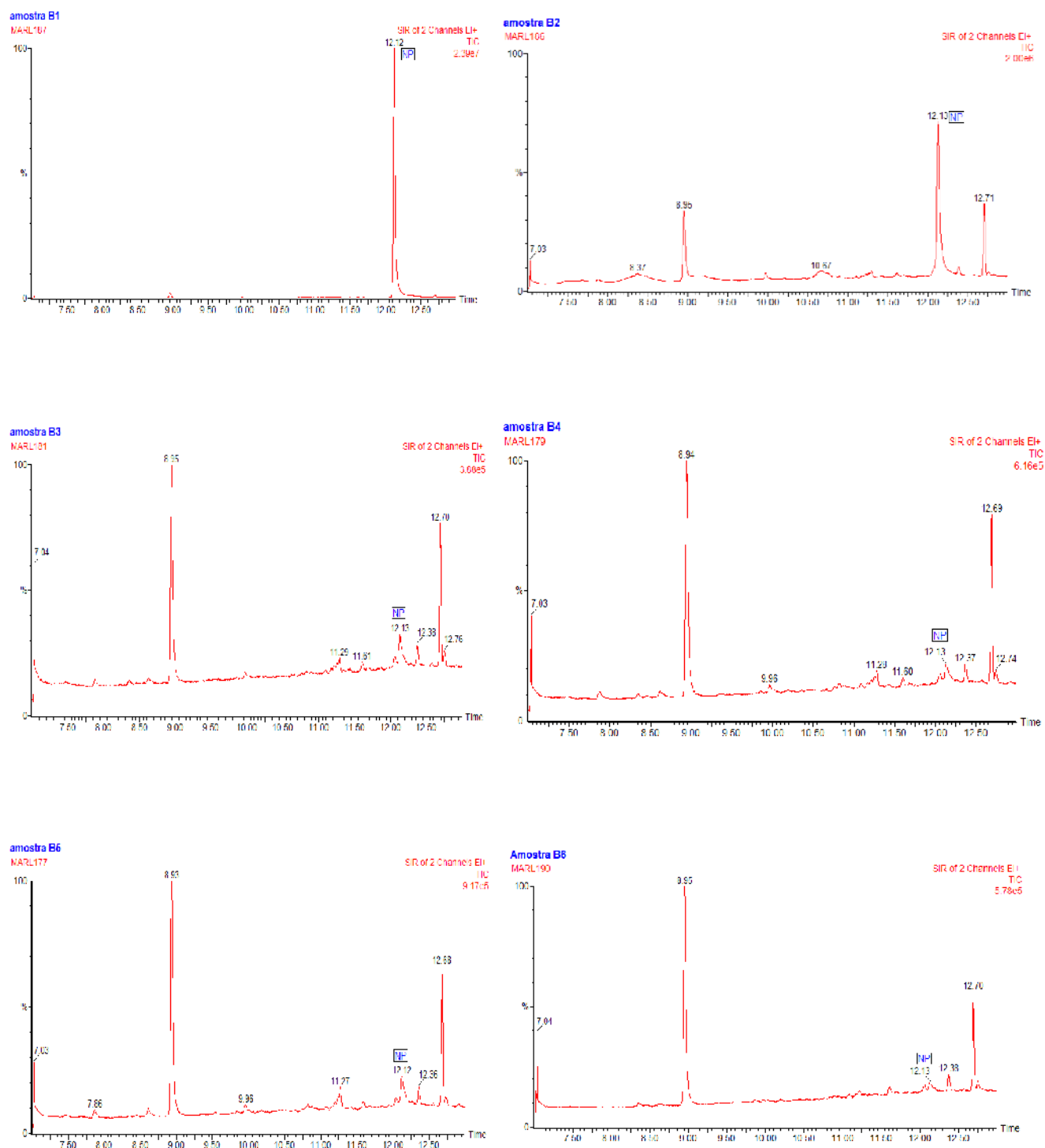


FIGURA II.2– Cromatogramas resultantes das amostras da fase líquida do reactor B (7 mg NP/L), apresentados, da primeira para a última amostra.

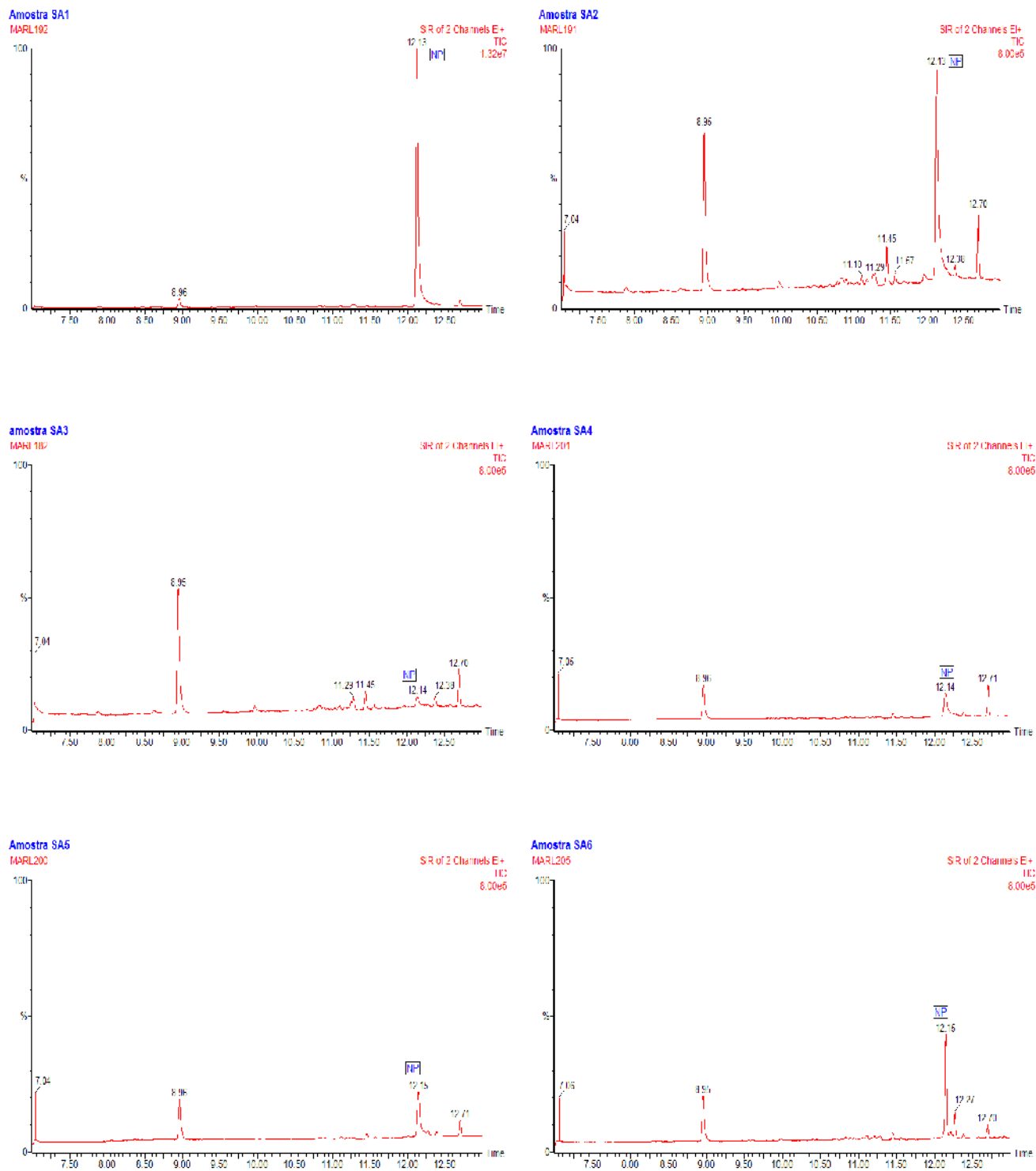


FIGURA II.3– Cromatogramas resultantes das amostras da fase sólida do reactor A (2 mg NP/L), apresentados, da primeira para a última amostra.

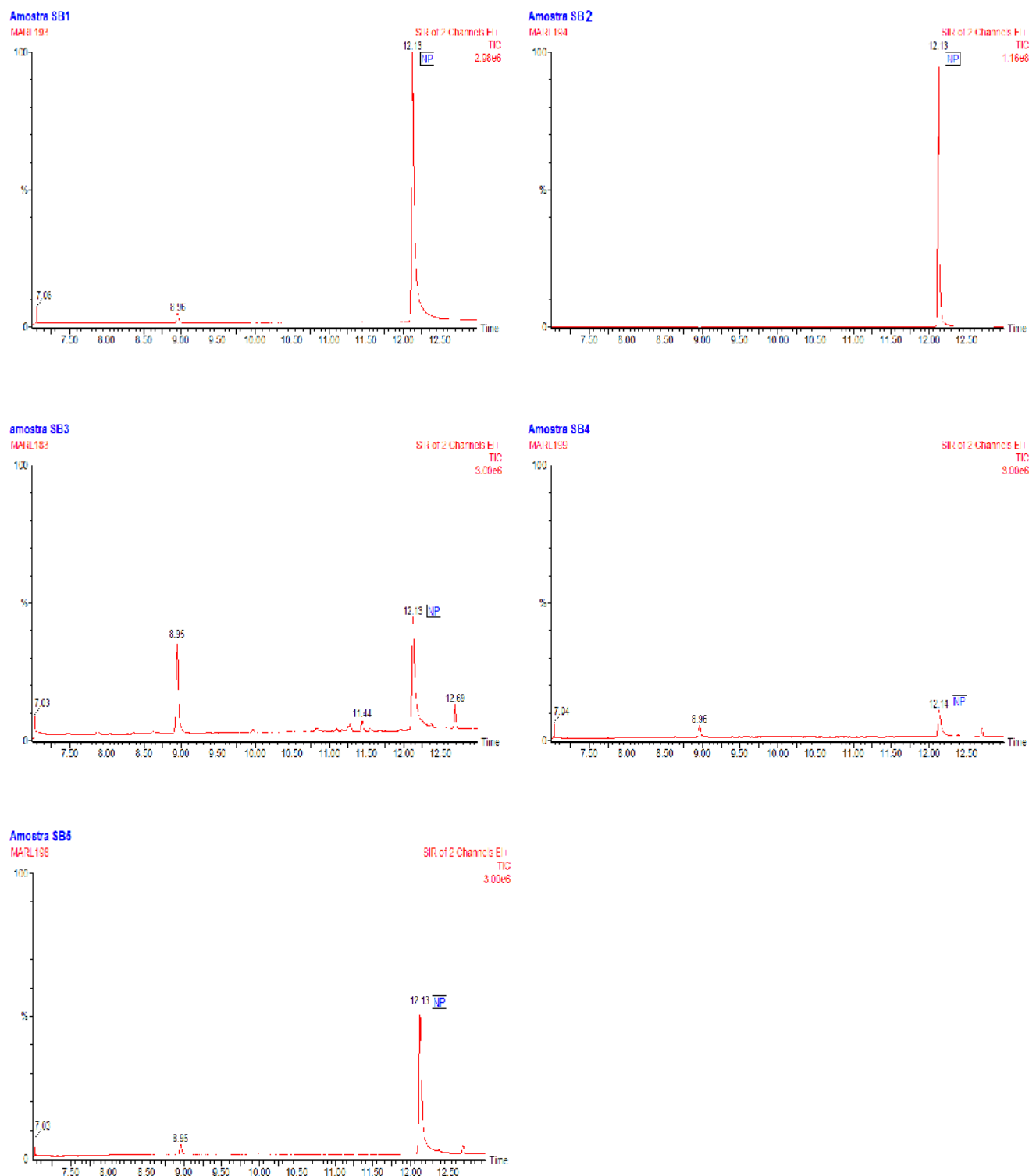


FIGURA II.4– Cromatogramas resultantes das amostras da fase sólida do reactor B (7 mg NP/L), apresentados, da primeira para a última amostra.

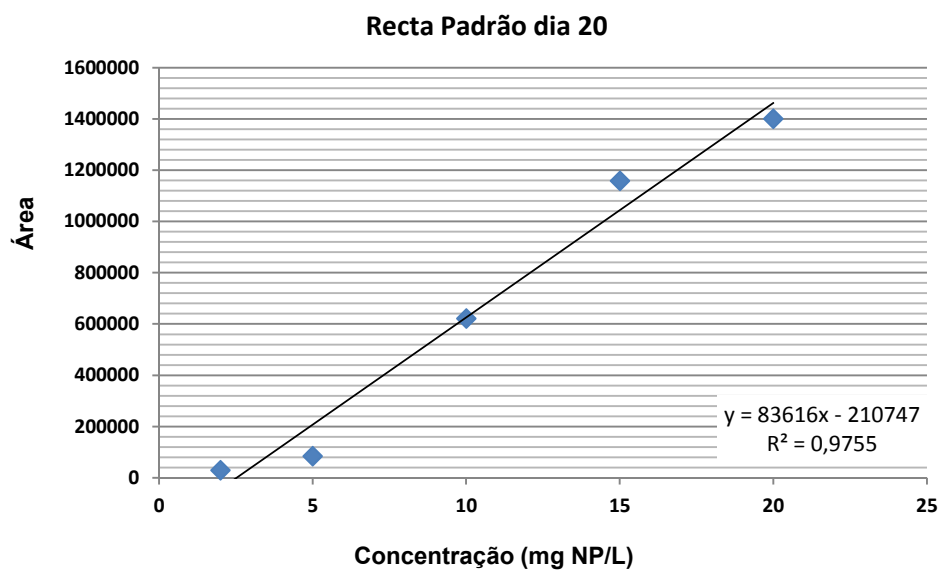


FIGURA II.5— Análise gráfica da recta obtida com as amostras padrão do NP, no dia 20 de Dezembro de 2007

Quadro II-1 – Resultados obtidos para o reactor A (2 mg NP/L).

Duração do ensaio (h)	Fase líquida				Fase sólida			
	Amostra	Área obtida	Concentração (mg NP/L)	Concentração Total de OP no reactor (mg NP/L) ⁽¹⁾	Amostra	Área obtida	Concentração (mg NP/L)	Concentração Total de OP no reactor (mg NP/Kg SSV) ⁽¹⁾
1	A1	246706	5,663	0,03	SA1	460770	8,336	114,56
24	A2	9294	2,698	0,013	SA2	29355	2,948	1,738
72	A3	4458	2,638	0,013	SA3	1353	2,599	1,570
120	A4	5364	2,649	0,013	SA4	4054	2,632	1,550
168	A5	60519	3,338	0,016	SA5	6664	2,665	1,685
216	A6	2964	2,619	0,012	SA6	6951	2,669	2,199

Nota:

(1) – Concentração total tendo em conta a percentagem de recuperação do método (70%).

Quadro II-2 – Resultados obtidos para o reactor B (7 mg NP/L).

Duração do ensaio (h)	Fase líquida				Fase sólida			
	Amostra	Área obtida	Concentração (mg NP/L)	Concentração Total de OP no reactor (mg NP/L) ⁽¹⁾	Amostra	Área obtida	Concentração (mg NP/L)	Concentração Total de OP no reactor (mg NP/Kg SSV) ⁽¹⁾
1	B1	822045	12,848	0,06	SB1	3194576	42,477	259,92
24	B2	69099	3,445	0,016	SB2	132633	4,238	2,835
72	B3	3108	2,621	0,012	SB3	74809	3,516	2,020
120	B4	3073	2,620	0,012	SB4	16041	2,782	1,559
168	B5	7400	2,674	0,013	SB5	76084	3,532	2,051
216	B6	1612	2,602	0,012	SB6	79361	3,573	2,646

Nota:

(1) – Concentração total tendo em conta a percentagem de recuperação do método (70%).

Quadro II-3– Tratamento dos resultados obtidos para o reactor A (2 mg NP/L).

Duração do ensaio (h)	Fase líq. Tot de NP real (mg/L)	Fase sol. Tot de NP real (mg NP/ kg SSV)	Fase Líquida (mg NP)	Fase Sólida (mg NP)	TOTAL (mg NP)	Concentração Total de NP no reactor A (mg NP/L)	Concentração fase sólida (mg NP/L)	Tax.remoção específica (mg NP/ mg SSV.h)	Tax. remoção esp. F. Líq (mg NP/ mg SSV.d)	Tax. remoção esp. F. Sol (mg NP/ mg SSV.d)
0	2,440	-	-	-	-	2,440	-	-	-	-
1	0,027	9,527	0,32	9,53	9,85	0,821	0,794	2,8E-04	4,2E-04	2,8E-04
24	0,013	0,168	0,15	0,17	0,32	0,027	0,014	6,0E-06	1,1E-07	5,8E-06
72	0,013	0,148	0,15	0,15	0,30	0,025	0,012	7,0E-09	1,0E-09	6,0E-09
120	0,013	0,150	0,15	0,15	0,30	0,025	0,013	-7,7E-10	-1,9E-10	-5,8E-10
168	0,016	0,152	0,19	0,15	0,34	0,029	0,013	-1,2E-08	-1,2E-08	-5,6E-10
216	0,012	0,166	0,15	0,17	0,32	0,026	0,014	8,1E-09	1,2E-08	-4,2E-09

Quadro II-4– Tratamento dos resultados obtidos para o reactor B (7 mg NP/L).

Duração do ensaio (h)	Fase líq. Tot de NP real (mg/L)	Fase sol. Tot de NP real (mg NP/ kg SSV)	Fase Líquida (mg NP)	Fase Sólida (mg NP)	TOTAL (mg NP)	Concentração Total de NP no reactor B (mg NP/L)	Concentração fase sólida (mg NP/L)	Tax.remoção específica (mg NP/ mg SSV.h)	Tax. remoção esp. F. Líq (mg NP/ mg SSV.d)	Tax. remoção esp. F. Sol (mg NP/ mg SSV.d)
0	7,380	-	-	-	-	7,380	-	-	-	-
1	0,061	259,920	0,73	21,61	22,35	1,862	1,801	9,5E-04	1,3E-03	9,6E-04
24	0,016	2,835	0,20	0,24	0,44	0,037	0,020	1,4E-05	3,4E-07	1,3E-05
72	0,012	2,020	0,15	0,20	0,35	0,029	0,017	2,6E-08	1,4E-08	1,2E-08
120	0,012	1,559	0,15	0,16	0,31	0,026	0,013	1,3E-08	7,5E-12	1,3E-08
168	0,013	2,051	0,15	0,20	0,35	0,030	0,017	-1,4E-08	-9,2E-10	-1,3E-08
216	0,012	2,646	0,15	0,20	0,35	0,029	0,017	5,4E-10	1,2E-09	-7,0E-10

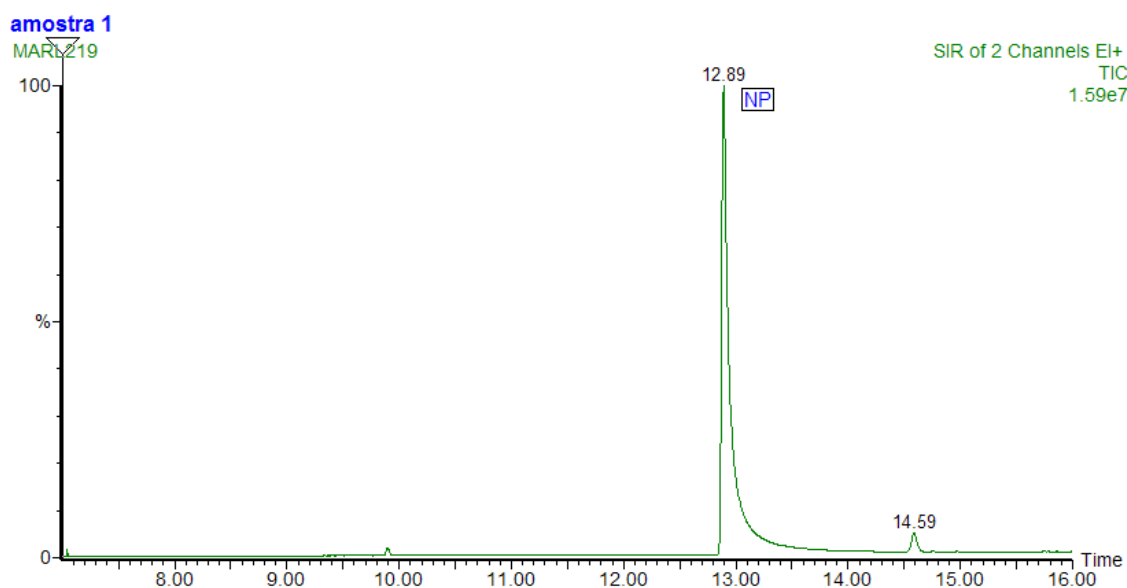


FIGURA II-6 – Cromatograma da amostra padrão, para determinar a taxa de recuperação.

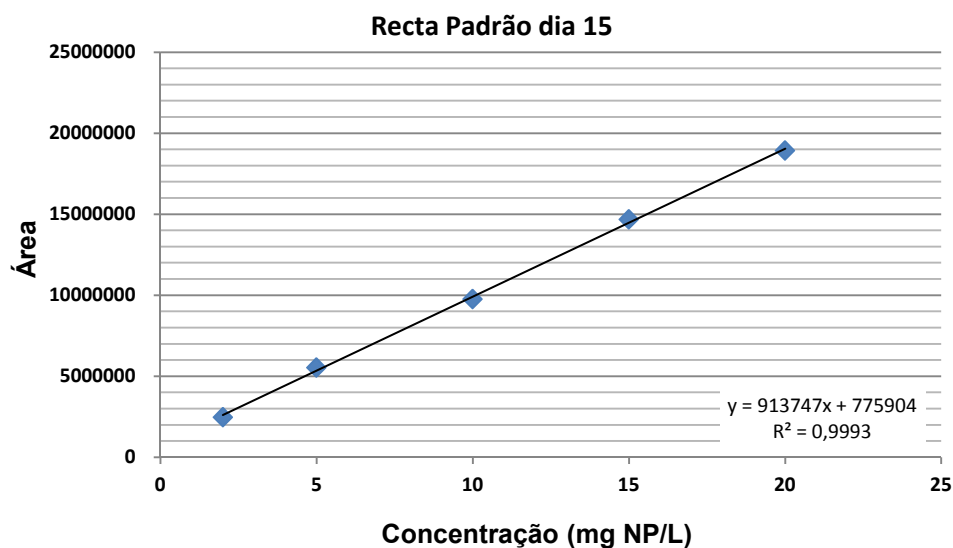


FIGURA II.7– Análise gráfica da recta obtida com as amostras padrão do NP, no dia 15 de Janeiro de 2008, para a determinação da taxa de recuperação.

Quadro II-5– Valores para o cálculo da taxa de recuperação.

Concentração inicial (mg NP/L)	1
Volume amostra (ml)	350
Diluição	500 x
Concentração na amostra (mg NP/L)	242,49
Concentração recuperada (mg NP/L)	0,69
Taxa de recuperação (%)	70